Aus dem Institut für Medizinische Strahlenkunde der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. rer. nat. A. M. Kellerer

Untersuchungen zur Bestimmung des mittleren Energieaufwandes pro Silberkorn in den photographischen Emulsionen Ilford K 2 und K 5

— ein Beitrag zur quantitativen Autoradiographie —

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hans Georg Krezdorn
aus Stuttgart

Würzburg, den 21. Dezember 1981

1982

Aus dem Institut für Medizinische Strahlenkunde der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. rer. nat. A. M. Kellerer

Untersuchungen zur Bestimmung des mittleren Energieaufwandes pro Silberkorn in den photographischen Emulsionen Ilford K 2 und K 5

— ein Beitrag zur quantitativen Autoradiographie —

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Hans Georg Krezdorn
aus Stuttgart

Würzburg, den 21. Dezember 1981

Referent: Professor Dr. rer. nat. A. M. Kellerer

Korreferent: Professor Dr. med. B. Maurer-Schultze

Dekan: Professor Dr. med. K. A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 25.2.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543522_0043

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	MATERIAL UND METHODEN	5
1.	Angaben zur Photoemulsion	5
1.1.	Zusammensetzung und Empfindlichkeit der Photoemulsion	5
1.2.	Dichte der Photoemulsion	6
1.3.	Volumenreduktion	6
2.	Prinzip des photographischen Prozesses	7
3.	Verwendete radioaktive Substanzen	9
4.	Durchführung der Versuche	9
4.1.	Tritium als interne Strahlungsquelle	9
4.1.1.	Verdünnungsschemata der Versuche	10
4.1.2.	Berechnung der Energiedichte	13
4.2.	^{241}Ameritium als externe Strahlungsquelle	13
4.2.1.	Bestrahlungsvorrichtung	14
4.2.2.	Experimentelle Bestimmung der Energiedichte	16
5.	Herstellen der Autoradiogramme	21
5.1.	Abhängigkeit der Korndichte von der Entwicklungszeit	22
6.	Auswertung der Autoradiogramme	23
6.1.	Silberkornzählung	23
6.2.	Nulleffekt der Autoradiogramme	24
6.3.	Statistischer Fehler bei der Bestimmung der Korndichte	24
III.	ERGEBNISSE	26
A.	Untersuchungen zur Photoemulsion	26
1.	Dichte der Emulsion	26
2.	Volumenreduktion	27

3.	Entwicklungszeit für die Amidolentwicklung dicker Emulsionsschichten	29
B.	Versuche mit ^{3}H-TdR als interne Strahlungsquelle	31
1.	Spezifische Aktivität von ^{3}H-TdR in den Versuchen 1 bis 6	31
2.	Energiedichte in der Emulsion	33
3.	Korndichte in der Emulsion	33
4.	Energieaufwand pro Silberkorn	34
C.	Versuch mit ^{241}Am als externe Strahlungsquelle	38
1.	Korndichte in der Emulsion	38
2.	Energiedichte in der Emulsion	38
3.	Energieaufwand pro Silberkorn	42
IV.	DISKUSSION	50
1.	Untersuchung zum Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns	50
2.	Bisherige Untersuchungen zur Kornausbeute pro Zerfall bei ILFORD Emulsionen	53
3.	Vergleich mit den Ergebnissen bisheriger Untersuchungen	56
V.	ZUSAMMENFASSUNG	60
VI.	ANHANG	62
	LITERATURVERZEICHNIS	66

I. EINLEITUNG

Die Autoradiographie hat vielfältige Anwendungen in der Untersuchung von Stoffwechselvorgängen in Zellverbänden, Zellen oder Zellorganellen gefunden. In der Zelle werden radioaktiv-markierte Vorläufer angeboten, die dann eingebaut werden. Die von dem inkorporierten Isotop später emittierten ionisierenden Teilchen wirken auf die Silberbromid-Kristalle einer Photoemulsion, die in direktem Kontakt mit dem zu untersuchenden Präparat gebracht ist. Durch Auswertung der Autoradiogramme unter dem Mikroskop kann eine Aussage z.B. über das Verhältnis der Anzahl markierter Zellen zur Anzahl nicht markierter Zellen getroffen werden oder es können markierte Zellen in bestimmten Zellphasen wie der Mitose erkannt werden. In den meisten Anwendungen geht es nur darum, Zellen als mit einem bestimmten Isotop markiert oder nicht markiert zu erkennen; gelegentlich wünscht man jedoch auch die Intensität der Markierung der Zellen zu erfassen. Diese Art quantitativer Autoradiographie kann beträchtliche Anforderungen an Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Versuche stellen. Dabei ist die Kenntnis der Empfindlichkeit und der Empfindlichkeitskonstanz der verwendeten photographischen Emulsionen von Bedeutung. Da die Aktivität und damit die Markierung der Zelle aus der Anzahl der beobachteten Silberkörner erschlossen wird, ist es wichtig, den mittleren Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns zu kennen. Dieser Energieaufwand ist von Emulsion zu Emulsion verschieden und soll in der vorliegenden Arbeit für die Emulsionen ILFORD K 2 und K 5 experimentell bestimmt werden.

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben für den Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns und die meisten Untersuchungen beziehen sich auf Tritium, das die in Abbildung 1 gezeigte Energieverteilung der emitierten β-Teilchen aufweist.

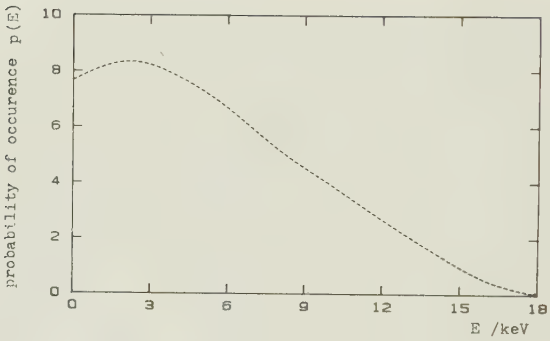


Abb. 1 a: Energiespektrum von ^{3}H nach ROGERS (1979)

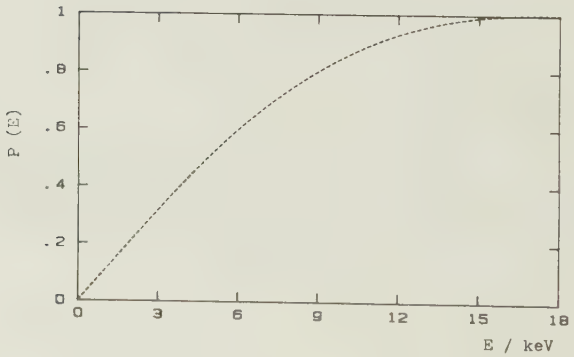


Abb. 1 b: Summenspektrum von Abbildung 1 a

Aus diesem Spektrum resultiert eine mittlere Energie pro Zerfall von 5,7 keV.

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben für den Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns durch Tritium. CARO und SCHNÖS (1965) geben für eine dicke Schicht der Emulsion ILFORD L 4 eine Kornausbeute von 1,32 Silberkörner pro ß-Zerfall an, ADA et al. (1965) fanden 0,29 Silberkörner pro ß-Zerfall. Für Einkornschichten der Emulsion ILFORD L 4 ermittelten BACHMANN und SALPETER (1967) und RON und PRESCOTT (1970) eine Kornausbeute von 0,1 Silberkörner pro ß-Zerfall. MAURER und PRIMBSCH (1964) geben für die Emulsion KODAK AR 10 eine Kornausbeute von 0,41 Silberkörner pro ß-Zerfall an. All diese Arbeiten sind jedoch nicht unmittelbar vergleichbar, da sie sich auf verschiedene Geometrien beziehen und die Größe Anzahl der Silberkörner pro ß-Zerfall stark von der Geometrie abhängt. ROGERS (1979) hat vorgeschlagen, diese Größe als Effizienz (efficiency) zu bezeichnen. Eine eher vergleichbare und daher für allgemeinere Überlegungen brauchbarere Größe ist die mittlere Kornzahl pro tatsächlich in die Emulsion eintretendes Elektron; in der Terminologie von ROGERS wird dies als Ausbeute (yield) bezeichnet. Im letzten Kapitel dieser Arbeit soll erörtert werden, inwieweit aus den in den genannten Arbeiten erhaltenen Feststellungen über die Effizienz Aussagen über die Ausbeute gemacht werden können. Auffällig ist die erhebliche Schwankung der Ausbeute bei den genannten Arbeiten, bei Verwendung derselben Emulsion. Als Ursache hierfür muß, abgesehen von Unterschieden in der Geometrie, die jeweilige Verarbeitungstechnik der Emulsion angesehen werden. Die Untersuchungen von KOPRIWA (1967) zeigen den Einfluß der Entwicklungstechnik auf die Kornausbeute pro ß-Zerfall.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die experimentelle Bestimmung der Ausbeute und des mittleren Energieaufwands pro Silberkorn, also einer mit der Ausbeute eng verwandten Größe.

Gewählt werden dazu die Emulsionen ILFORD K 2 und K 5, da sie in der Autoradiographie am häufigsten verwendet werden. Zur experimentellen Bestimmung des Energieaufwands wird auf die typische autoradiographische Versuchsanordnung, wie sie die genannten Autoren verwenden, verzichtet. Es werden zwei unterschiedliche Methoden gewählt. Zum einen wird die radioaktive Substanz ^{3}H-Thymidin der geschmolzenen Emulsion zugesetzt und die nach dem Trocknen der Emulsion durch ß-Strahlung entstandene Korndichte (Silberkörner pro Volumeneinheit) bestimmt. Zum anderen wird die getrocknete Emulsion in einer dafür konstruierten Bestrahlungsvorrichtung einer γ-Strahlung (^{241}Ameritium) ausgesetzt.

Die erhaltene Korndichte kann der experimentell bestimmten oder berechneten Energiedichte (Energie pro Volumeneinheit) zugeordnet werden.

Für die Versuche mit ^{3}H wird ein mittlerer Energieaufwand von 5,4 keV (ILFORD K 2) und 2,9 keV (ILFORD K 5) zur Erzeugung eines Silberkorns in der Emulsion erhalten, für die Versuche mit ^{241}Am ein mittlerer Energieaufwand von 4,5 keV (ILFORD K 2).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, neben der Bestimmung der Ausbeute und des mittleren Energieaufwands pro Silberkorn auch die Konstruktion einer Bestrahlungsvorrichtung mit ^{241}Am, die als Teststrahler zur Überprüfung der Empfindlichkeitskonstanz photographischer Emulsionen geeignet ist.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. Angaben zur Photoemulsion

1.1. Zusammensetzung und Empfindlichkeit der Photoemulsion

Verwendet werden die Photoemulsionen ILFORD K 2 und K 5 (ILFORD Ltd, Essex, England). Nach den Angaben des Herstellers setzt sich die Emulsion zusammen aus:

Ag	1,877	gcm^{-3}	Br	1,388	gcm^{-3}
C	0,277	gcm^{-3}	H	0,053	gcm^{-3}
N	0,074	gcm^{-3}	S	0,007	gcm^{-3}
I	0,012	gcm^{-3}	O	0,249	gcm^{-3}

bei 58 % relativer Luftfeuchtigkeit.

(entnommen aus: "Technical Information sheet Y. 44. 1. L 68, ILFORD Ltd. Essex, England)

Die Silberbromidkristalle der Emulsion sind in Gelantine eingebettet, damit die einzelnen Kristalle auch bei Trocknung, Entwicklung und Fixation der Emulsion voneinander getrennt bleiben. Die Empfindlichkeit der Emulsion ist unter anderem abhängig von der Korngröße. Sie nimmt mit steigendem Durchmesser der Kristalle zu, das Auflösungsvermögen der Emulsion jedoch ab.

Für die folgenden Versuche werden die Emulsionen ILFORD K 2 und K 5 verwendet. Bei gleichem mittleren Kristalldurchmesser von 0,2 µm, unterscheiden sich die Emulsionen durch den Gehalt an Sensibilatoren.

1.2. Dichte der Photoemulsion

Die Dichte der getrockneten Emulsion kann den Herstellerangaben entnommen werden (Information sheet Y. 44. 1.).
Sie beträgt: ϱ_t [x)] = 3,83 gcm^{-3}.
Die Dichte der entwickelten Emulsion wird mit ϱ_e = 1,27 gcm^{-3} angegeben (persönliche Mitteilung ILFORD Ltd.).
Für die geschmolzene Emulsion wird die Dichte experimentell bestimmt: Geschmolzene Photoemulsion wird in Gefäße bekannten Volumens gebracht und sofort die Masse bestimmt. Entsprechend $\varrho = \frac{m}{V}$ kann die Dichte der geschmolzenen Emulsion berechnet werden.
Verwendet werden die Volumina 1 cm^3 und 10 cm^3. Der Mittelwert aus insgesamt 6 Meßwerten beträgt:

$$\varrho_{fl} = 1{,}32\ gcm^{-3}.$$

1.3. Volumenreduktion

Die geschmolzene Emulsion erfährt durch die Trocknung einen Volumenverlust, der hauptsächlich durch den Wasserverlust bedingt ist. Bei der Fixierung der entwickelten Emulsion werden Silberbromidkristalle herausgelöst. Die Emulsion schrumpft erneut.
Die Kenntnis der Volumenreduktion ist wichtig für die Berechnung der Energiedichte in der Emulsion.

x) Symbole: siehe Liste der verwendeten Symbole Seite 64

Bei den Versuchen mit ^{3}H-Thymidin (^{3}H-TdR) wird die radioaktive Substanz der geschmolzenen Emulsion zugesetzt. Die bei der Auswertung der Autoradiogramme erhaltenen Korndichten beziehen sich jedoch auf ein Volumen entwickelter Emulsion. Bei der Berechnung der entsprechenden Energiedichte muß daher die Volumenreduktion durch Trocknung und Entwicklung durch Einsetzen eines Korrekturfaktors berücksichtigt werden.
Die Volumenreduktion wird experimentell bestimmt:
Die bei 42 ^{o} C im Wasserbad geschmolzene Emulsion wird auf Objektträger aufgestrichen (siehe Herstellung der Autoradiogramme II. 5.). Sofort nach dem Aufstreichen, nach der Trocknung und nach der Entwicklung wird das Gewicht der aufgetragenen Emulsion bestimmt.
Aus 20 Emulsions-Präparaten wird ein Mittelwert für das Gewicht der aufgetragenen Emulsion in geschmolzenem, getrockneten und entwickelten Zustand angegeben. Über die entsprechende Dichte kann das Volumen der aufgetragenen Emulsion berechnet werden ($V = \frac{m}{g}$).
Nach Vergleich der Ergebnisse können die Volumenreduktionsfaktoren abgeleitet werden:

F : Volumenreduktion von geschmolzener zu entwickelter Emulsion

f_1: Volumenreduktion von geschmolzener zu getrockneter Emulsion

f_2: Volumenreduktion von getrockneter zu entwickelter Emulsion

2. Prinzip des photographischen Prozesses

Die Entstehung des latenten Bildes kann nach ROGERS (1979) auf folgende Weise geklärt werden. Trifft ein geladenes Teilchen auf ein Silberbromidkristall in einer photographischen Emulsion, so kann so viel Energie

an Elektronen auf der äußersten Schale von Brom abgegeben werden, daß diese ins Leitungsband des Kristalles gelangen. Solche Elektronen sind im Gitter frei beweglich und wandern an Defektstellen des Gitters (sensitivity speck), wo sie von Silberionen eingefangen werden. Dadurch entsteht ein Silberatom, das für sich allein jedoch nur kurze Zeit stabil ist.
Für die Entstehung des latenten Bildes ist es erforderlich, daß an einem sensitivity speck mehrere Silberatome vorhanden sind. AMLACHER (1974) gibt die dazu erforderliche Anzahl mit 10 bis 10 000 an, abhängig von der verwendeten Emulsion.
Ein latentes Bild kann auch durch mechanische Einwirkungen wie z.B. Druck auf die Emulsion, zu schnelles Trocknen oder durch Lagerung der Emulsion bei zu hohen Umgebungstemperaturen entstehen.
Auch das latente Bild besitzt, wie das einzelne Silberatom, nur eine begrenzte Lebensdauer. Bei langen Expositionszeiten sollte dies berücksichtigt werden. Hohe Luftfeuchtigkeit oder Raumtemperatur oder Einwirken oxidierender Substanzen können das Erlöschen des latenten Bildes beschleunigen. Dieser Effekt wird als Fading bezeichnet.

Entwicklung des latenten Bildes

Durch die reduzierende Eigenschaft des Amidol-Entwicklers können im Prinzip alle Silberbromidkristalle der Emulsion in metallisches Silber (Silberkörner) überführt werden. Die an den sensitivity speck angelagerten Silberatome wirken als Katalysatoren, so daß zuerst an den Silberbromidkristallen mit latentem Bild ein Silberkeim entsteht. Der Silberkeim wächst nun durch additive Anlagerung zu einem Silberkorn heran. Dieser Vorgang wird durch die sich der Entwicklung anschließenden Fixation beendet. Durch das Fixationsmittel Natrium-Thiosulfat

werden die nicht entwickelten Silberbromidkristalle unter Bildung von Silber-Thiosulfat-Komplexen herausgelöst. Die photographische Emulsion wird durchsichtig.

3. Verwendete radioaktive Substanzen

Zur Verfügung stehen zwei radioaktive Substanzen:

1. Thymidin-Methyl-^{3}H (^{3}H-TdR) mit einer spezifischen Aktivität von 6700 /uCi / mmol. Hersteller ist New England Nuclear Chemicales Boston/Mass.
2. ^{241}Ameritium. Das Präparat ist in eine Plexiglasscheibe eingelassen. Die emittierte α-Strahlung wird dadurch absorbiert. Für die Versuche steht lediglich die durchgelassene γ-Strahlung zur Verfügung.

4. Durchführung der Versuche

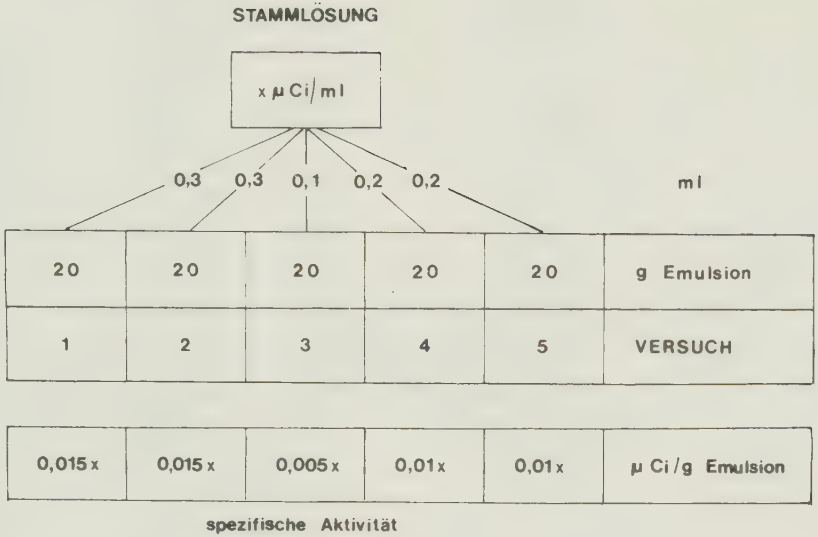
4.1. Tritium als interne Strahlungsquelle

In 6 Versuchen wird Tritium in unterschiedlicher Konzentration (siehe Verdünnungsschemata) der im Wasserbad geschmolzenen Emulsion zugesetzt. Die Emulsion wird dann, wie in Abschnitt 5. ff. näher beschrieben, auf Objektträger aufgetragen und getrochnet. Zur Exposition werden die Tritium-Emulsions-Präparate bei + 4 ^{o} C gelagert. Die Expositionszeiten liegen zwischen 20 bis 96 Stunden. Danach werden die Präparate einer Amidol-Entwicklung unterzogen. Die Korndichte in der Emulsion

(Silberkornzahl pro Volumeneinheit) wird lichtmikroskopisch bestimmt. Die entsprechende Energiedichte (Energie pro Volumeneinheit) kann aus der spezifischen Aktivität von ^{3}H-TdR und der Expositionszeit errechnet werden (siehe 4.1.2.). Damit läßt sich die Anzahl der Silberkörner pro Zerfall und, über die bei einem ß-Zerfall freiwerdende mittlere Energie, der mittlere Energieaufwand pro Silberkorn berechnen.

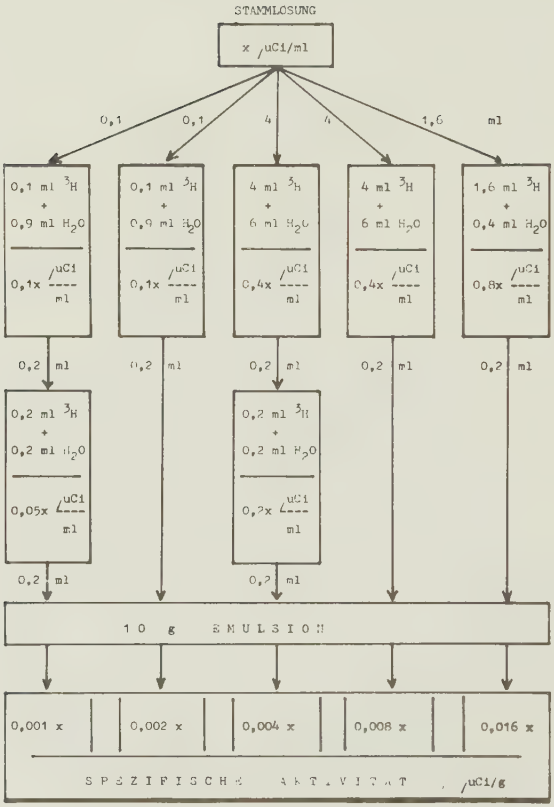
4.1.1. Verdünnungsschemata der Versuche

Das von New England Chemicals gelieferte ^{3}H-TdR liegt in einer Aktivität von 6700 µCi / mmol (das entspricht 1 mCi / ml) vor.
Für jeden Versuch wird zuerst eine ^{3}H-TdR-Stammlösung hergestellt. Die Aktivität dieser Stammlösung wird durch mehrere Proben in einem Scintillationszähler (Fa. PACKARD) bestimmt. Da das Gerät nur einen Bruchteil der entstehenden ß-Zerfälle registriert, wird als Standard Tritiumwasser (^{3}H-OH) im gleichen Durchlauf mitgemessen. Über die bekannte Aktivität des Standards kann die Zählausbeute des Gerätes bestimmt werden.
Die Stammlösung der Versuche 1 bis 6 wird jedesmal neu angesetzt. Entsprechend Schemata I und II wird die radioaktive Substanz der Stammlösung entnommen und der Emulsion zugesetzt.



Schema I

In Schema I ist für die Versuche 1 bis 5 die Herstellung der spezifischen Aktivität der Emulsion dargestellt. Die Aktivität der für jeden Versuch neu angesetzten Stammlösung wird im Scintillationszähler bestimmt.



Schema II

Ausgehend von einer Stammlösung sind die Verdünnungsreihen für Versuch Nr. 6 dargestellt. Die erhaltenen ^{3}H-Lösungen werden je 10 g Emulsion zugesetzt. Alle Präparate werden unter den selben Bedingungen verarbeitet.

4.1.2. Berechnung der Energiedichte

Aus der spezifischen Aktivität α , der mittleren Energie pro ß-Zerfall $\bar{E}$, der Expositionszeit t und der Dichte der geschmolzenen Emulsion ϱ_{fl} kann die Energiedichte in der geschmolzenen Emulsion berechnet werden:

$$\varepsilon = \alpha \cdot t \cdot \bar{E} \cdot \varrho_{fl}$$

Die so berechnete Energiedichte bezieht sich allerdings auf ein größeres Volumen als die nach der Entwicklung der Emulsion ermittelte Korndichte. Daher muß die Volumenreduktion als Korrekturfaktor in der Berechnung der Energiedichte berücksichtigt werden:

$$\varepsilon = \alpha \cdot t \cdot \bar{E} \cdot \varrho_{fl} \cdot F$$

4.2. ^{241}Ameritium als externe Strahlungsquelle

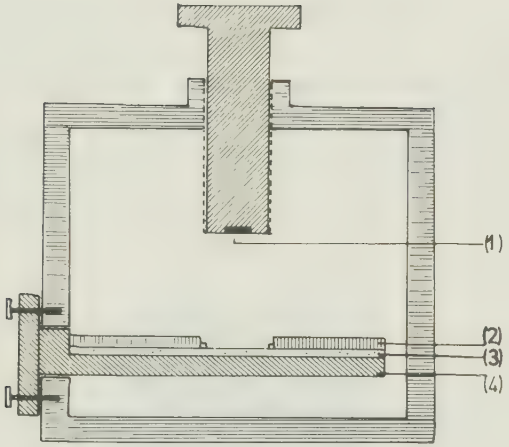
Für die verwendete ^{241}Am-Quelle wird eine Bestrahlungsvorrichtung konstruiert, die es erlaubt, die Quelle in unterschiedlichem Abstand zu der auf Objektträger aufgebrachten und getrockneten Emulsion (siehe auch 5.) zu fixieren. Bei dem durchgeführten Versuch betragen die Abstände 0,9, 1,9 bis 6,9 cm von der Emulsion. Bei den genannten Abständen werden jeweils Emulsions-Präparate über 2, 5 und 10 Minuten exponiert.

Da die von der ^{241}Am-Quelle bei vorgegebenem Abstand pro Zeiteinheit in die Emulsion eingestrahlte Energie nicht bekannt ist, muß sie experimentell bestimmt werden. Mit Hilfe des Abstand-Quadrat-Gesetzes

kann dann die vorliegende Energiedichte bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten und Abständen der Quelle von der Emulsion berechnet werden.

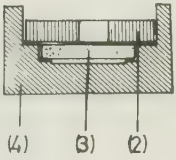
4.2.1. Bestrahlungsvorrichtung

Schema III zeigt die verwendete Bestrahlungsvorrichtung. Die ^{241}Am-Quelle ist in eine Plexiglasscheibe eingelassen, die die austretende α-Strahlung absorbiert. Die Emulsion wird also nur mit der durchgelassenen γ-Strahlung bestrahlt. Die Quelle ist am unteren Ende einer Spindel angebracht. Dadurch kann der Abstand r zur Emulsion verändert werden. Durch an den äußeren Teil der Spindel einsetzbare Abstandsscheiben (1 cm) kann auch in der Dunkelkammer der Abstand verändert werden. Der Objektträger mit der getrockneten Photoemulsion liegt auf einem herausnehmbaren Einschub. Über die Emulsion wird eine Bleiblende mit einem Fenster von 0,6 mal 1,5 cm gestellt.



(1) ^{241}Am-Quelle
(2) Bleiblende
(3) Photoemulsion
(4) Einschub

Querschnitt: Einschub



Schema III

^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung. Die ^{241}Am-Quelle ist am unteren Ende einer vertikal verstellbaren Spindel angebracht. Die Photoemulsion, die auf einen Objektträger aufgetragen ist, kann mittels eines Einschubes in den Strahlengang der ^{241}Am-Quelle gebracht werden

4.2.2. Experimentelle Bestimmung der Energiedichte

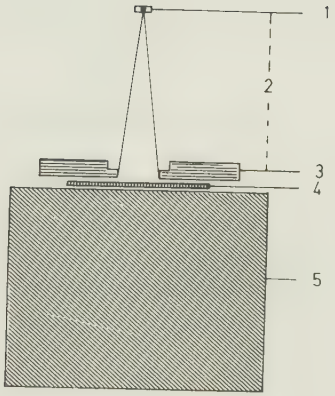
Da die von der verwendeten ^{241}Am-Quelle hervorgerufene Dosisleistung nicht bekannt ist, wird die Dichte der in der Emulsion absorbierten Energie, bei fixiertem Abstand der Quelle von der Emulsion und bekannter Bestrahlungszeit, experimentell bestimmt.
Unter der Voraussetzung, daß die Energiedichte ε' (absorbierte Energie pro Volumeneinheit) proportional der Energieflußdichte ${}_r\psi$ an der Oberfläche der Emulsion (wobei r der Abstand von der Strahlenquelle sei) und der Expositionszeit t ist, gilt:

$$\varepsilon' = c \cdot {}_r\psi \cdot t \qquad (1)$$

Da im folgenden die Abhängigkeit der Energieflußdichte ψ vom Quadrat des Abstands von der Quelle benötigt wird, wird sie in Gleichung (1) mit ${}_r\psi$ bezeichnet.
Experimentell bestimmt wird die Energieflußdichte ${}_r\psi$ sowie die Konstante c.

Bestimmung der Energieflußdichte ${}_r\psi$

In Schema IV ist die für die experimentelle Bestimmung der Energieflußdichte verwendete Versuchsanordnung. Die ^{241}Am-Quelle befindet sich in einem fixierten Abstand zu einem Spektrometer. Es handelt sich um einen Lithium gedrifteten Germanium-Detektor, dessen Impulse von einem Impulshöhenanalysator registriert werden. Eine Bleiblende



1 : ^{241}Am-Quelle
2 : Abstand Quelle-Emulsion r
3 : Bleiblende
4 : Photoemulsion
5 : Germanium-Detektor

Schema IV

Versuchsanordnung für die experimentelle Bestimmung der Energieflußdichte. Die ^{241}Am-Quelle befindet sich in einem Abstand von 60 mm vom Spektrometer. Für die Bestimmung der absorbierten Energie wird die Photoemulsion in den Strahlengang der ^{241}Am-Quelle eingeschoben

begrenzt das in den Detektor eintretende Strahlenbündel. Bei einer Meßdauer von t = 1000 s und einem Abstand r = 60 mm wird die Impulshöhenverteilung gemessen (Impulshöhenverteilung: Anzahl der Impulse in dem der Kanalbreite entsprechenden Impulshöhenintervall).
Aus der ermittelten Impulshöhenverteilung erhält man die spektrale Teilchenflußdichte φ_E nach Division der Impulszahl pro Kanal (N) durch die Meßzeit (t), durch die Fläche der Blendenöffnung (F) und durch das der Kanalbreite entsprechende Energieintervall (ΔE):

$$\varphi_E = \frac{N(E)}{t \cdot F \cdot \Delta E} \qquad (2)$$

Die der Quantenenergie zugeordnete Kanalnummer wird mit Hilfe bekannter Linien der spektralen Teilchenflußdichte gewonnen.
Die spektrale Energieflußdichte ψ_E ergibt sich aus der spektralen Teilchenflußdichte φ_E durch Multiplikation mit der Teilchenenergie:

$$\psi_E = \varphi_E \cdot E$$

Integration über die Teilchenenergie liefert dann die Summenverteilung der Energieflußdichte:

$$r\psi(E) = \int_0^E \psi(E')\,dE' \qquad (3)$$

Für den Abstand r_0 = 60 mm ergibt sich damit ein experimenteller Wert für die totale Energieflußdichte $\psi = \psi(E_{max})$

Analog zu dem beschriebenen Verfahren wird nun die Energieflußdichte $r_0\psi'$, nach Einbringen einer Photoemulsion definierter Schichtdicke d (getrockenete Emulsion) in den Strahlengang der ^{241}Am-Quelle, bestimmt.

Bestimmung der Konstanten (c) zwischen Energieflußdichte und der Energiedichte

Entsprechend Gleichung (1) gilt für c:

$$c = \frac{\varepsilon(r,t)}{r\psi \cdot t}$$

Demnach kann c bestimmt werden, wenn für den Abstand (r_0) und die Meßzeit (t_0) neben $r_0\psi$ auch $\varepsilon(r_0, t_0)$ bekannt ist.
Damit ergibt sich für ε:

$$\varepsilon = \frac{r_0\psi - r_0\psi'}{d} t_0$$

Nach Einsetzen der experimentellen Werte $r_0\psi$ und $r_0\psi'$, der Schichtdicke der Emulsion d und der Meßzeit t_0 ergibt sich die Konstante c. Für beliebige Abstände der ^{241}Am-Quelle gilt dann:

$$r\psi = \frac{(r_0)^2}{r^2} \times r_0\psi$$

Gemäß Gleichung (1) kann die Energiedichte bei bekanntem $r_0\psi$ und der Konstanten c für beliebige Abstände und Expositionszeiten berechnet werden. Dabei muß berücksichtigt werden, daß bei der Berechnung der Energiedichte die getrocknete Emulsion zu Grunde gelegt wird, bei der Bestimmung der Korndichte jedoch die entwickelte Emulsion.
Die der Korndichte entsprechende Energiedichte erhält man somit nach Korrektur mit dem Volumenreduktionsfaktor f_2 [x]:

$$\varepsilon = \varepsilon' \times f_2$$

[x]) f_2 : Volumenreduktion durch Entwicklung der getrockneten Emulsion (siehe II, 1.3. oder III, A. 2.).

5. Herstellen der Autoradiogramme

Alle Arbeiten mit der Photoemulsion werden in der Dunkelkammer durchgeführt. Dabei wird eine Rotlichtquelle (15 Wattbirne hinter Rotlichtfilter Nr. 1 bei Emulsion K 2 bzw. Nr. 2 bei Emulsion K 5) mit einem Abstand von 1 m von der Arbeitsfläche verwendet. Zur Herstellung der dicken Emulsionsschichten wird das von SCHULTZE beschriebene Verfahren (SCHULTZE, 1969 bzw. 1976) angewendet.
Gereinigte und entfettete Objektträger werden nebeneinander auf eine Plexiglasplatte gelegt. Über die Seiten aller Objektträger (7 Objektträger) werden zwei Leinenbändchen gespannt. Die im Wasserbad bei 42 ^{o} C geschmolzene Photoemulsion wird durch eine Mullage filtriert und auf den ersten Objektträger aufgegossen. Mit einem Glasstab wird nun die Emulsion über die anderen Objektträger ausgestrichen, wobei die Leinenbändchen als Führung dienen. Gleichzeitig bestimmen diese auch die Dicke der aufgetragenen Emulsion. Nach einigen Minuten werden die Leinenbändchen gelöst und die Objektträger horizontal zum Trocknen ausgelegt. Die Trocknungszeit beträgt bei den Versuchen 4 bis 4 1/2 Stunden und erfolgt in vollständiger Dunkelheit. Die Trocknungszeit wird durch die Luftfeuchtigkeit und Temperatur der Dunkelkammer beeinflußt. Da die Arbeiten in einer nicht klimatisierten Dunkelkammer durchgeführt werden, wird die Luftfeuchtigkeit mit einem Hygrometer gemessen. Bei den Versuchen liegt die Luftfeuchtigkeit zwischen 35 und 65 % (relative Luftfeuchtigkeit), die Temperatur zwischen 17 bis 22 ^{o} C.
Die getrockneten Präparate werden zusammen mit dem Trocknungsmittel (Drierite^{R}) in Expositionskästchen verpackt und lichtdicht verschlossen im Kühlschrank bei + 4 ^{o} C gelagert.
Bei den Versuchen mit Tritium (^{3}H-TdR wird der geschmolzenen Emulsion zugesetzt) werden die Präparate nach der Trocknung zur Exposition im Kühlschrank über 20 bis 96 Stunden gelagert. Bei dem Versuch mit ^{241}Am

wird die getrocknete Emulsion sofort in der Bestrahlungsvorrichtung über unterschiedliche Zeiten bestrahlt und dann zusammen entwickelt.

Die Entwicklung der Präparate erfolgt ebenfalls bei vollständiger Dunkelheit. Die Präparate kommen für 20 Minuten (siehe auch 5.1.) in einen frisch angesetzten Amidol-Entwickler (Amidol 3,4 g, Na_2So_4 sicc. 13,5 g, Borsäure 26,3 g, KBr 6 ml und Aquabidest ad 1500 ml), der bei 12 ^{o} C gekühlt gehalten wird. Die erniedrigte Temperatur wird wegen des langsamen Durchdringens des Entwicklers bei dicken Emulsionsschichten gewählt (SCHULTZE 1976), um eine gleichmäßige Entwicklung der Emulsionsschicht zu erhalten. Nach kurzem Spülen in Aqua dest. werden die Präparate in einer 30 %igen Natriumthiosulfatlösung unter gleichmäßigem Schwenken fixiert (Temperatur 18 ^{o} C). Anschließend werden die Präparate über 90 Minuten gewässert, in Aqua bidest. gespült und dann möglichst staubfrei getrocknet.
Zur Auswertung werden die Präparate mit Entellan (MERCK) unter einem Deckglas eingedeckt.

5.1. Abhängigkeit der Korndichte von der Entwicklungszeit

In einer Meßreihe wird die Abhängigkeit der Silberkorndichte von der Entwicklungszeit geprüft. Dazu werden auf Objektträger aufgetragene und getrocknete Emulsionen in der unter 4.2.1. beschriebenen ^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung bei einem festen Abstand von 2,9 cm 300 s exponiert. Anschließend werden die Präparate mit dem beschriebenen Amidol-Entwickler unterschiedlich lange entwickelt. Die gewählten Entwicklungszeiten lagen bei 5, 10, 15 bis 40 und 60 Minuten.

6. Auswertung der Autoradiogramme

6.1. Silberkornzählung

Die Kornzählung in der entwickelten Emulsion erfolgt unter dem Mikroskop (Fa. LEITZ) mit einem Ölimmersionsobjektiv von 100facher und einem Okular von 12,5facher Vergrößerung. Zur Auszählung wird ein Okularzählnetz verwendet (Fläche eines Zählquadrates im Zählnetz: $4\ /um \cdot 4\ /um = 16\ /um^2$). Ausgezählt werden je 50 dieser Zählquadrate.

Bei der Auswertung dicker Emulsionsschichten muß berücksichtigt werden, daß die Silberkörner in verschiedenen Ebenen der Emulsion liegen. Um alle Silberkörner im Bereich des Zählnetzes erfassen zu können, wird die Emulsion schichtweise durchfokussiert und jeweils die Silberkörner gezählt.

Zur Berechnung der Silberkorndichte, das heißt die Kornzahl im ausgewerteten Emulsions-Volumen, muß die Schichtdicke der Emulsion bekannt sein. Sie wird auf folgende Weise bestimmt:
zuerst wird die oberste Silberkornschicht eingestellt. Mit der Mikrometerschraube wird der Kreuztisch des Mikroskops soweit angehoben bis die unterste Silberkornschicht erreicht ist. Die Verschiebung des Kreuztisches kann an der geeichten Mikrometerskala abgelesen werden. Der Meßvorgang wird mehrmals wiederholt.
Aus der gemessenen Schichtdicke und der Fläche der Zählquadrate ergibt sich das Volumen entwickelter Emulsion in dem die Silberkörner ausgezählt wurden. Um die erhaltenen Korndichten (Korndichte : Silberkornzahl pro Volumeneinheit) unabhängig von der Schichtdicke vergleichen zu können, werden diese auf ein Volumen von 1000 $/um^3$ bezogen. Die im

Ergebnisteil aufgeführten Zahlenwerte für die Korndichte beziehen sich auf dieses Volumen.

6.2. Nulleffekt der Autoradiogramme

Unter dem Nulleffekt versteht man die Silberkörner in der entwickelten Emulsion, deren Entstehen nicht dem Einfluß der verwendeten Strahlungsquelle zuzuschreiben ist. Der Nulleffekt entsteht teilweise schon bei der Herstellung der Emulsion oder deren Transport. Temperaturen über + 4 ^{o} C, zu lange Lagerung oder Einwirken des natürlichen Strahlenpegels erhöhen den Nulleffekt.
In den meisten Fällen ist jedoch ein erhöhter Nulleffekt auf einen unsachgemäßen Umgang mit der Emulsion zurückzuführen. Mechanische Einwirkungen wie z.B. Druck mit dem Glasstab auf die Emulsion, zu helles Rotlicht oder ungenügender Abstand des Rotlichtes von der Arbeitsfläche erhöhen den Nulleffekt. Wird die Emulsion zu schnell getrocknet, so können Mikrorisse entstehen, an deren Rändern unerwünschte latente Bilder entstehen können.
Die mit der Emulsion in Berührung kommenden Gegenstände müssen vollständig sauber sein. Ansonsten kann es durch Chemographie zu einem massiv erhöhten Nulleffekt kommen. Als Chemographie bezeichnet man das Entstehen von Silberkörner durch Einwirken reduzierender Substanzen auf die Silberbromidkristalle der Emulsion.

6.3. Statistischer Fehler bei der Bestimmung der Korndichte

Die mittlere Korndichte v wird durch Einzelmessungen an verschiedenen Stellen der Emulsion bestimmt.

Für den Standardfehler der Einzelmessung gilt:

$$\sigma = \frac{\sqrt{N}}{V}$$

Dabei ist N die Anzahl der im Volumen V gezählten Silberkörner.
Bei der Bildung des Mittelwertes aus den Einzelmessungen soll deren unterschiedlicher statistischer Fehler berücksichtigt werden. Daher wird der Mittelwert mit der Methode der kleinsten Quadrate berechnet.

Die minimale Summe der quadratischen Abweichungen ergibt sich dann mit folgender Schätzung des Mittelwertes:

$$\bar{V} = \Sigma \frac{V_i}{\sigma_i} \; / \; \Sigma \frac{1}{\sigma_i}$$

Für den Standardfehler des Mittelwertes erhält man:

$$\sigma_V = \left(\sum_i \sigma_{V_i}^{-2} \right)^{-0,5}$$

Die mittlere Korndichte des Nulleffektes ($\bar{v}_N$) wird ebenfalls durch Einzelmessungen an nicht bestrahlten Präparaten der selben Emulsion bestimmt.
Damit ergibt sich bei Annahme der Unabhängigkeit der Fehler für die korrigierte mittlere Korndichte $\bar{v}_c$:

$$\bar{V}_c = \bar{V} - \bar{V}_N \pm \sqrt{\sigma_V^2 + \sigma_{V_N}^2}$$

III. ERGEBNISSE

A. Untersuchungen zur Photoemulsion

1. Dichte der Emulsion

Die Dichte der geschmolzenen Emulsion wird experimentell bestimmt. Bei verschiedenen definierten Volumina geschmolzener Emulsion ($1 cm^3$ und $10 cm^3$) wird die Masse bestimmt und gemäß $\varrho = m/V$ die Dichte berechnet. Aus 6 Meßwerten ergibt sich der Mittelwert (siehe Tabelle 1):

$$\varrho_{fl} = 1{,}32\ gcm^{-3}$$

Der Wert für die Dichte der getrockneten Emulsion kann dem "Information sheet Y 44. 1." des Herstellers entnommen werden.

$$\varrho_{t} = 3{,}83\ gcm^{-3}$$

Die Dichte der entwickelten Emulsion (persönliche Mitteilung des Herstellers) beträgt:

$$\varrho_{e} = 1{,}27\ gcm^{-3}$$

2. Volumenreduktion

Zur Bestimmung der Volumenreduktion wird geschmolzene Emulsion auf Objektträger aufgestrichen und sofort danach das Gewicht der aufgetragenen Emulsion bestimmt. Aus 20 Präparaten wird für das Gewicht der aufgetragenen Emulsion ein Mittelwert bestimmt. Er beträgt 0,393 g. Das mittlere Gewicht nach Trocknung und Entwicklung der Emulsion beträgt 0,026 g (siehe Tabelle 1, Zeile 1). Wird über die Dichte der Emulsion das Volumen bestimmt, so ergibt sich ein mittleres Volumen von 0,298 cm^3 für die geschmolzene Emulsion und 0,02 cm^3 für die Emulsion nach Trocknung und Entwicklung (Tabelle 1, Zeile 3). Aus den Zahlenwerten ist zu ersehen, daß die Emulsion durch Trocknung und Entwicklung eine Volumenreduktion um den Faktor 15 erfährt. Da die Emulsion am Objektträger haftet, verändert sich die Fläche der aufgetragenen Emulsion nicht. Die Volumenreduktion ist daher in erster Linie eine Reduktion der Schichtdicke. Dies ist in Schema V noch einmal verdeutlicht.
Aus den erhaltenen experimentellen Werten können die folgenden Volumenreduktionsfaktoren abgeleitet werden:

Volumenreduktionsfaktor:

$F = 15$: Volumenreduktion durch Trockung und Entwicklung der Emulsion

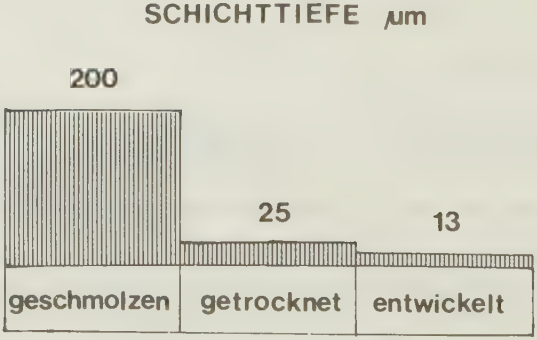
$f_1 = 8$: Volumenreduktion durch Trocknung der Emulsion

$f_2 = 1{,}8$: Volumenreduktion durch Entwicklung der getrockneten Emulsion

Im Folgenden werden diese Faktoren als Korrekturfaktoren bei der Berechnung der Energiedichte in der Emulsion eingesetzt.

EMULSION	geschmolzen	getrocknet	entwickelt
MASSE g	0,3932	0,139	0,0256
DICHTE gcm^{-3}	1,32	3,83	1,27
VOLUMEN cm^3	0,298	0,036	0,020

Tab. 1: Aufgeführt sind die Mittelwerte aus 20 Präparaten für den Massenverlust der Emulsion durch Trocknung bzw. Entwicklung. Über die Dichte der Emulsion kann das Volumen und die entsprechende Volumenreduktion berechnet werden.



Schema V

Die auf einen Objektträger aufgetragene Photoemulsion erfährt durch die Trocknung und Entwicklung eine Volumenreduktion. Da sich die Fläche der Emulsionsschicht nicht ändert, handelt es sich hauptsächlich um eine Reduktion der Schichtdicke. Die Schichtdicke reduziert sich von 200 µm auf 13 µm.

3. Entwicklungszeit für die Amidolentwicklung dicker Emulsionsschichten

Präparate mit getrockneter Photoemulsion werden in der ^{241}Am-Bestrahlungseinrichtung (siehe 4.2.1.) bei einem Abstand von der Quelle von 2,9 cm über 300 s exponiert. Anschließend werden je 2 Präparate pro Entwicklungszeit mit dem beschriebenen Amidolentwickler (siehe 5.) entwickelt. Die Entwicklungszeiten sind: 5, 10, 15 bis 40 und 60 Minuten. Aus 4 Einzelmessungen der Korndichte pro Entwicklungszeit wird ein gewichteter Mittelwert gebildet und der analog bestimmte Mittelwert der unbestrahlten, unter den gleichen Bedingungen entwickelten Präparate abgezogen.

In Abbildung 2 ist die Silberkorndichte in Abhängigkeit von der Entwicklungszeit dargestellt. Die angegebenen Fehlerbalken repräsentieren den Standardfehler des Mittelwertes.
Der Abbildung 2 ist zu entnehmen, daß im Bereich 17 bis 35 Minuten ein Plateau besteht. Unter der Voraussetzung, daß Konzentration und Temperatur des Entwicklers konstant sind, ist die Korndichte für diesen Bereich praktisch unabhängig von der Entwicklungszeit.

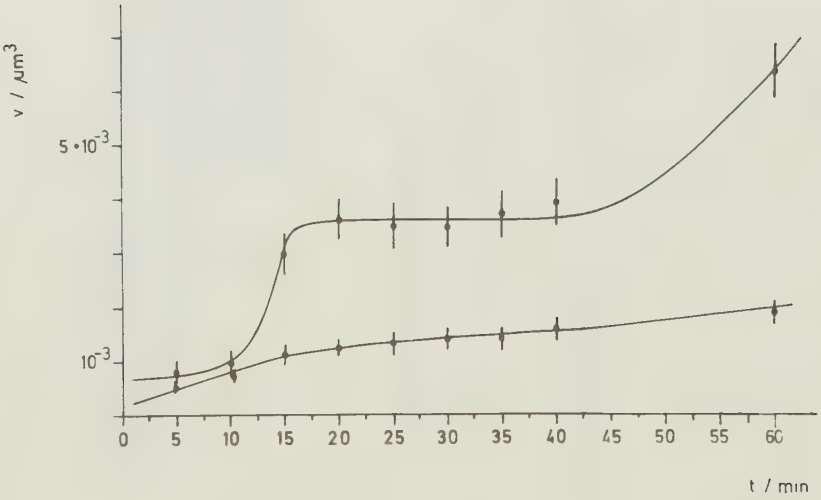


Abb. 2: Korndichte v als Funktion der Entwicklungszeit t bei Amidolentwicklung dicker Emulsionsschichten von ILFORD K 2

○ Korndichte ● Nulleffekt

B. Versuche mit ^{3}H-TdR als interne Strahlungsquelle

Zur Bestimmung der mittleren Kornzahl pro β-Zerfall wird ^{3}H-TdR der geschmolzenen Emulsion ILFORD K 2 oder K 5 zugesetzt. Die Emulsion wird dann, wie schon in Kapitel II, 5. näher beschrieben, exponiert und entwickelt. Die ausgewertete Korndichte in der entwickelten Emulsion wird dann der berechneten Energiedichte gegenübergestellt. Zur Berechnung der Energiedichte wird die spezifische Aktivität von ^{3}H-TdR in der Emulsion herangezogen.

1. Spezifische Aktivität von ^{3}H-TdR in den Versuchen 1 bis 6

Für jeden Versuch wird eine ^{3}H-TdR-Stammlösung hergestellt (siehe 4.1.1.). Die mit einem Scintillationszähler gemessene Aktivität der Stammlösung (Tabelle 2) beträgt bei den Versuchen 1 bis 5 3,9 µCi / ml, bei Versuch 6 8,9 µCi / ml (für Versuch 6 wird eine andere Charge verwendet). Ausgehend von diesen Stammlösungen werden gemäß den in Kapitel 4.1.1. beschriebenen Schemata I + II ^{3}H-TdR-Verdünnungen hergestellt und der abgewogenen und geschmolzenen Emulsion zugesetzt. Die bei den einzelnen Versuchen erhaltenen spezifischen Aktivitäten sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

VERSUCH Nr.	1 - 5	6
Aktivität der Stammlösung µCi/ml	3,94	8,9

Tab. 2: Aktivität der Stammlösung der Versuche 1 bis 6. Die Bestimmung wird mit einem Tricarb-Scintilationszähler durchgeführt

VERSUCH Nr.	1	2	3	4	5
spezifische Aktivität µCi/g	0,059	0,059	0,02	0,039	0,039

VERSUCH Nr.	6				
spezifische Aktivität µCi/g	0,0089	0,0178	0,0356	0,0712	0,1424

Tab. 3: Spezifische Aktivitäten von ^{3}H-TdR in der geschmolzenen Emulsion für die Versuche 1 bis 6

2. Energiedichte in der Emulsion

Aus der spezifischen Aktivität α , der mittleren Energie pro ß-Zerfall von ^{3}H, $\bar{E}$, der Dichte ϱ_{fl} und der Expositionszeit t kann die in der geschmolzenen Emulsion vorliegende Energiedichte berechnet werden. Da sich das Volumen der Emulsion durch Trocknung und Entwicklung ändert, muß in die Berechnung der Energiedichte noch der Volumenreduktionsfaktor F (siehe 4.1.2.) einbezogen werden. Damit gilt für die Energiedichte ε' :

$$\varepsilon' = \alpha \cdot \bar{E} \cdot \varrho_{fl} \cdot t \cdot F$$

Die berechneten Zahlenwerte für die Energiedichte sind zusammen mit den ausgewerteten Korndichten in Tabelle 4 aufgeführt.

3. Korndichte in der Emulsion

Die Technik der Silberkornzählung ist bereits in Kapitel II. 6.1. beschrieben. Die in Tabelle 4 (Zeile 4) zusammengestellten Korndichten beziehen sich auf ein Volumen entwickelter Emulsion von 10^{3} /μm^{3}. Die angegebenen Zahlenwerte sind gewichtete Mittelwerte (siehe II. 6.3.) aus insgesamt 25 Einzelmessungen bei 5 Präparaten für die Versuche 1 bis 5 bzw. 30 Einzelmessungen bei 3 Präparaten für Versuch Nr. 6. Die mittlere Korndichte bei z.B. Versuch Nr. 3 beträgt $4{,}63 \pm 0{,}18$ / 10^{3} /μm^{3} bei einer spezifischen Aktivität von 0,039 /uCi / g Emulsion und einer Expositionszeit von 40 Stunden.

4. Energieaufwand pro Silberkorn

Zur Bestimmung des Energieaufwands pro Silberkorn wird die ermittelte Korndichte mit der entsprechenden Energiedichte in der Emulsion verglichen. Bei einer mittleren Korndichte von $4{,}63 \pm 0{,}18 / 10^3 / \mu m^3$ und einer Energiedichte von $23{,}67$ keV $/ 10^3 / \mu m^3$, ergibt sich bei Versuch Nr. 3 ein Energieaufwand pro Silberkorn von $5{,}1 \pm 0{,}2$ keV. Die Zahlenwerte für den Energieaufwand pro Silberkorn sind in Tabelle 4 Zeile 5 aufgeführt.

Abbildung 3 zeigt die Korndichte als Funktion der Energiedichte. Die erhaltene Gerade verläuft in der logarithmischen Darstellung annähernd unter 45°.
Für die Emulsion ILFORD K 5 liegen nur wenige Zahlenwerte vor, da diese Emulsion lediglich bei den Versuchen Nr. 3, 4 und 5 miteinbezogen wurde (siehe Tabelle 4 b).

Aus den Zahlenwerten der Tabelle 4, Zeile 5 kann für den Energieaufwand pro Korn ein gewichteter Mittelwert gebildet werden:

Energieaufwand pro Silberkorn für die Emulsion

ILFORD K 2 :	5,43	$\pm$	0,04 keV
ILFORD K 5 :	2,91	$\pm$	0,06 keV

	VERSUCH Nr	1	2	3	4	5
I	spezifische Aktivität / µ Ci / g	0,059	0,059	0,02	0,039	0,039
II	Exposition / h	20	40	40	40	40
III	Energiedichte / 10^{-3} keV / µm³	17,93	35,85	12,15	23,67	23,67
IV	Korndichte 10^{-3} / µm³	2,73 ± 0,13 (0,89 ± 0,06)	7,63 ± 0,18 (1,11 ± 0,06)	2,95 ± 0,17 (2,21 ± 0,09)	4,81 ± 0,19 (1,27 ± 0,07)	4,63 ± 0,18 (1,21 ± 0,07)
V	Energieaufwand pro Korn / keV	6,6 ± 0,3	4,7 ± 0,1	4,1 ± 0,2	4,9 ± 0,2	5,1 ± 0,2

	VERSUCH Nr. 6					
I	spezifische Aktivität / µ Ci / g	0,0089	0,0089	0,0178	0,0178	0,0178
II	Exposition / h	72	96	24	48	72
III	Energiedichte / 10^{-3} keV / µm³	9,73	12,98	6,49	12,98	19,47
IV	Korndichte 10^{-3} / µm³	1,43 ± 0,14 (1,76 ± 0,08)	2,14 ± 0,16 (1,95 ± 0,09)	1,28 ± 0,13 (1,41 ± 0,08)	2,25 ± 0,15 (1,52 ± 0,08)	2,93 ± 0,16 (1,76 ± 0,08)
V	Energieaufwand pro Korn / keV	6,8 ± 0,7	6,1 ± 0,5	5,1 ± 0,5	5,8 ± 0,4	6,7 ± 0,4

	VERSUCH Nr. 6				
I	spezifische Aktivität / µ Ci / g	0,0178	0,0356	0,0356	0,0356	0,0356
II	Exposition / h	96	24	48	72	96
III	Energiedichte / 10^{-3} keV / µm³	25,95	12,98	25,95	38,94	51,90
IV	Korndichte 10^{-3} / µm³	4,40 ± 0,18 (1,95 ± 0,09)	1,81 ± 0,14 (1,41 ± 0,08)	4,22 ± 0,18 (1,52 ± 0,08)	6,48 ± 0,20 (1,76 ± 0,08)	9,35 ± 0,25 (1,95 ± 0,09)
V	Energieaufwand pro Korn / keV	5,9 ± 0,2	7,7 ± 0,6	6,2 ± 0,2	6,0 ± 0,2	5,6 ± 0,2

	VERSUCH Nr. 6				
I	spezifische Aktivität / µ Ci / g	0,0712	0,0712	0,0712	0,0712	0,1424
II	Exposition / h	24	48	72	96	24
III	Energiedichte / 10^{-3} keV / µm³	25,95	51,90	77,87	103,82	51,90
IV	Korndichte 10^{-3} / µm³	4,51 ± ,17 (1,41 ± 0,08)	9,30 ± 0,23 (1,52 ± 0,08)	13,52 ± 0,26 (1,76 ± 0,8)	17,43 ± 0,30 (1,95 ± 0,09)	9,96 ± 0,23 (1,41 ± 0,08)
V	Energieaufwand pro Korn / keV	5,8 ± 0,2	5,6 ± 0,1	5,8 ± 0,1	6,0 ± 0,1	5,2 ± 0,1

Tab. 4 a:

Korndichte und Energiedichte in der entwickelten Emulsion ILFORD K 2 für unterschiedliche spezifische Aktivität und Expositionszeit. Die Zahlenwerte für die Korndichte sind gewichtete Mittelwerte aus 25 Einzelmessungen. Der Nulleffekt der Versuche ist in Klammern angegeben. Der angegebene Energieaufwand pro Silberkorn ergibt sich aus Energiedichte/Korndichte.

VERSUCH Nr.		3	4	5
I	spezifische Aktivität / μ Ci	0,02	0,039	0,039
II	Exposition / h	40	40	40
III	Energiedichte / $\frac{10^{-3}\,keV}{\mu m^3}$	12,15	23,67	23,67
IV	Korndichte / $\frac{10^{-3}}{\mu m^3}$	4,47 ± 0,23 (4,18 ± 0,18)	8,05 ± 0,28 (3,46 ± 0,13)	7,48 ± 0,28 (3,41 ± 0,13)
V	Energieaufwand pro Korn / keV	2,7 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1

Tab. 4 b:

Korndichte und Energiedichte in der entwickelten Emulsion ILFORD K 5 für unterschiedliche spezifische Aktivität und Expositionszeit. Der Nulleffekt der Versuche ist in Klammern angegeben. Der Energieaufwand pro Silberkorn ergibt sich aus dem Verhältnis Energiedichte / Korndichte.

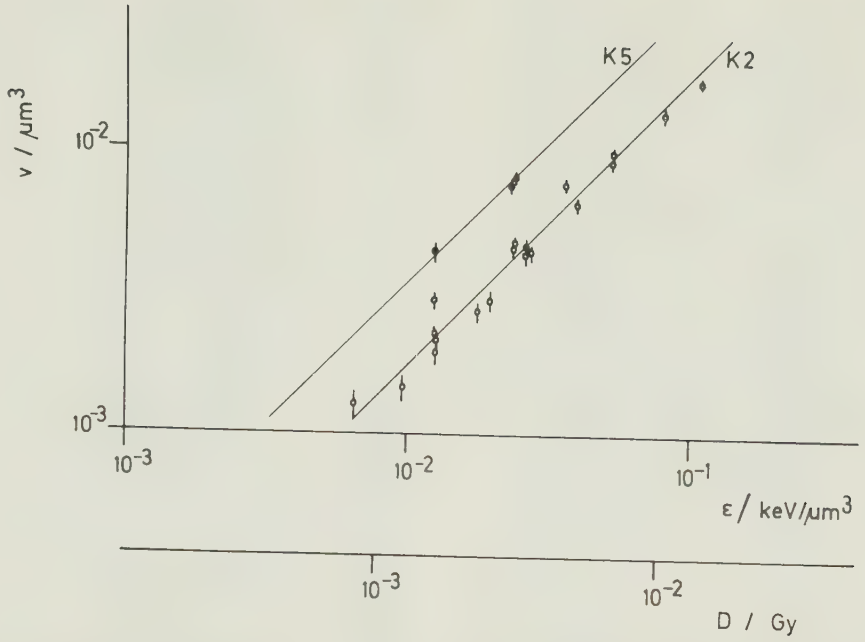


Abb. 3: Beobachtete Korndichte, v , als Funktion der Energiedichte, ε , und der Energiedosis, D , in der Emulsion ILFORD K 2 bzw. K 5. Wie im Text erläutert sind nicht nur v, sondern auch ε und D auf die entwickelte Emulsion bezogen

C. Versuch mit ^{241}Am als externe Strahlungsquelle

1. Korndichte in der Emulsion

Für diesen Versuch werden Präparate getrockneter Emulsion in der in Kapitel II. 4.2.1. beschriebenen ^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung bei unterschiedlichem Abstand der Quelle von der Emulsion und Expositionszeit "bestrahlt". Die Auswertung der Präparate ist in II. 6.1. beschrieben. Die erhaltenen Zahlenwerte für die Korndichten sind gewichtete Mittelwerte (siehe II. 6.3.) aus jeweils 9 Einzelmessungen an einem Präparat. Die Korndichten für verschiedene Abstände der Quelle und Expositionszeiten sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Bei einem Abstand von 2,9 cm und einer Expositionszeit von 600 s wird eine Korndichte von $5{,}3 \pm 0{,}4 / 10^3 / \mu m^3$ in der entwickelten Emulsion beobachtet.

2. Energiedichte in der Emulsion

Die der Korndichte entsprechende Energiedichte kann nach Gleichung (1) $\varepsilon = c \times {}_r\psi \times t$ (siehe II. 4.2.2.) berechnet werden. Da der Berechnung der Energiedichte die getrocknete Emulsion zugrunde gelegt wird, die Korndichte jedoch in der entwickelten Emulsion bestimmt wird, muß die Volumenreduktion der Emulsion durch Entwicklung berücksichtigt werden. Somit gilt für die korrigierte Energiedichte ε' :

$$\varepsilon' = \varepsilon \times f_2$$

Die Energieflußdichte $_r\psi$ und die Konstante c der Gleichung (1) werden experimentell bestimmt:

Mit der in Schema IV dargestellten Versuchsanordnung (siehe II. 4.2.2.) wird für die ^{241}Am-Quelle in einem Abstand von r = 60 mm vom Detektor über eine Meßzeit t = 1000 s die Impulshöhenverteilung bestimmt (Abbildung 4). Aus der Impulshöhenverteilung erhält man entsprechend:

$$\varphi_E = \frac{N(E)}{t \cdot F \cdot \Delta E}$$

die spektrale Teilchenflußdichte φ_E (Abbildung 5). Durch Multiplikation mit der Teilchenenergie:

$$\Psi_E = \varphi_E \cdot E$$

ergibt sich die spektrale Energieflußdichte Ψ_E (Abbildung 6). Integration über die Teilchenenergie liefert nach Gleichung (3):

$$_r\psi(E) = \int_0^E \Psi(E')\, dE'$$

die Energieflußdichte $_{r_0}\psi$.

Aus Abbildung 7 kann der experimentelle Wert für die Energieflußdichte $_{r_0}\psi$ entnommen werden:

$$_{r_0}\psi = 1{,}96 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{keV}/\mu\mathrm{m}^2\mathrm{s}$$

Für beliebige Abstände - r - der ^{241}Am-Quelle von der Emulsion gilt dann:

$$ {}_r\Psi = \frac{(r_0)}{r^2} \cdot r_0 $$

$$ {}_r\Psi = 7{,}06 \cdot \left(\frac{r}{mm} \right)^2 \quad keV / \mu m^2 s $$

Analog zu dem beschriebenen Verfahren wird die Energieflußdichte ${}_{r_0}\Psi'$, nach Einschalten einer getrockneten Emulsion definierter Schichtdicke d in den Strahlengang der Quelle, bestimmt. Die entsprechende Impulshöhenverteilung zeigt Abbildung 8, die spektrale Teilchenflußdichte Abbildung 9 und die spektrale Energieflußdichte Abbildung 10.

Abbildung 11 zeigt die Energieflußdichte ${}_{r_0}\Psi'$ nach Integration der spektralen Energieflußdichte über die Teilchenenergie. Für ${}_{r_0}\Psi'$ ergibt sich der experimentelle Wert:

$$ {}_{r_0}\Psi' = 1{,}74 \cdot 10^{-3} \quad keV / \mu m^2 s $$

Bestimmung der Konstanten c zwischen Energieflußdichte und Energiedichte:

Entsprechend Gleichung (1) gilt für c:

$$c = \frac{\varepsilon(r,t)}{r_0\Psi \cdot t}$$

c kann bestimmt werden, wenn für den Abstand r_0 und die Meßzeit t_0 neben $r_0\Psi$ auch (r_0, t_0) bekannt sind.

$$\varepsilon = \frac{r_0\Psi - r_0\Psi'}{d} \cdot t$$

Nach Einsetzen der Zahlenwerte:

$r_0\Psi = 1{,}96 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{keV/\mu m \cdot s}$

$r_0\Psi' = 1{,}74 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{keV/\mu m \cdot s}$

$t_0 = 1000\,\mathrm{s}$

$d = 39\,\mu\mathrm{m}$

erhält man für die Energiedichte $\varepsilon(r_0, t_0)$:

$$\varepsilon = 5{,}64 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{keV/\mu m^3}$$

Daraus folgt für c:

$$c = 2{,}87 \cdot 10^{-3}\,\mu\mathrm{m}^{-1}$$

Für beliebige Abstände der ^{241}Am-Quelle kann nun die Energiedichte

entsprechend Gleichung (1) berechnet werden:

$$\varepsilon = c \times {}_r\psi \times t$$

$$\varepsilon = 2{,}02 \cdot 10^{-2} / \left(\frac{r}{mm}\right)^2 \cdot t \quad keV/\mu m^3$$

Nach Berücksichtigung des Volumenreduktionsfaktors f_2 (f_2 : 1,8 - siehe III. A. 2.) ergibt sich für die korrigierte Energiedichte:

$$\varepsilon' = \varepsilon \cdot f_2$$

$$\varepsilon' = 3{,}64 \cdot 10^{-2} / \left(\frac{r}{mm}\right)^2 t \; keV/\mu m^3$$

Die mit Hilfe dieser Beziehung errechneten Energiedichten sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Zum Beispiel wird bei einem Abstand der ^{241}Am-Quelle von 2,9 cm von der Emulsion und einer Expositionszeit von 600 s eine für die entwickelte Emulsion korrigierte Energiedichte von 27 keV erhalten.

3. Energieaufwand pro Silberkorn

Zur Bestimmung des Energieaufwandes pro Silberkorn wird die ermittelte Korndichte mit der entsprechenden Energiedichte verglichen. Für den o.g. Abstand der ^{241}Am-Quelle von der Emulsion und eine Expositionszeit von

600 s kann der berechneten Energiedichte von 27 keV eine mittlere Korndichte von 5,3 $\pm$ 0,4 / 10^3 /μm^3 gegenübergestellt werden. Es ergibt sich ein Energieaufwand pro Silberkorn von 5,1 $\pm$ 0,04 keV.

Die errechneten Zahlenwerte für den Energieaufwand pro Silberkorn sind in Tabelle 5, Spalte 5 aufgeführt. Aus diesen Zahlenwerten kann ein gewichteter Mittelwert für den Energieaufwand pro Silberkorn gebildet werden:

Mittlerer Energieaufwand pro Silberkorn für die Emulsion ILFORD K 2:

$$4{,}5 \pm 0{,}1 \text{ keV}$$

Abbildung 12 zeigt die beobachtete Korndichte als Funktion der Energiedichte und der Energiedosis in der Emulsion ILFORD K 2. Die Korndichte - v - wie auch die Energiedichte - ε - und Energiedosis - D - sind auf die entwickelte Emulsion bezogen. Die Energiedichte und die Energiedosis ergeben sich aus den Werten für die getrocknete Emulsion (v, D) entsprechend: $\varepsilon' = 1{,}8\ \varepsilon$ bzw. $D' = 0{,}184\ D$. Die Korndichte steigt annähernd linear mit wachsender Energiedichte an. Der mangelnde Anstieg bei hoher Energiedichte läßt sich auf einen systematischen Fehler zurückführen. Darauf wird in der Diskussion näher eingegangen.

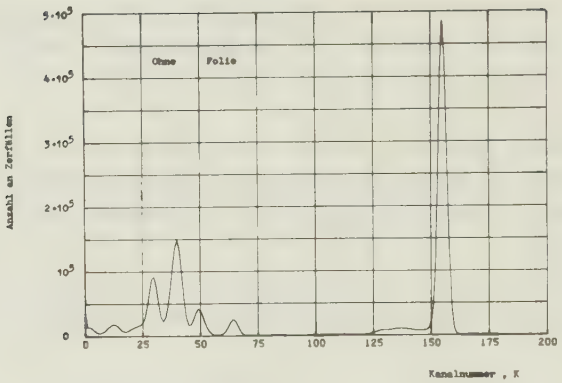


Abb. 4: Impulshöhenspektrum für die ^{241}Am-Quelle: Anzahl der Zerfälle pro Kanal im Impulshöhenanalysator. Der Kanal K entspricht der Energie E = K * 0,369 keV (siehe Text) Meßdauer : 1000 s

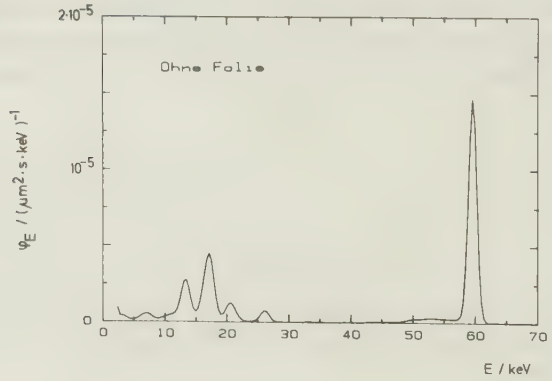


Abb. 5: Energiespektrum der Teilchenflußdichte φ_E der aus der ^{241}Am-Quelle emittierten Quanten bei einem Quelle - Detektor - Abstand von 6 cm

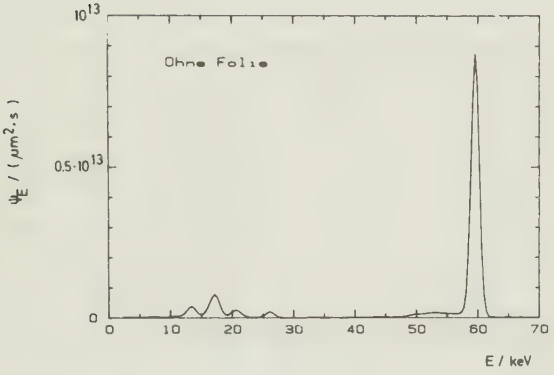


Abb. 6: Energiespektrum der Energieflußdichte Ψ_E der aus der ^{241}Am-Quelle emittierten Quanten bei einem Quelle - Detektor-Abstand von 6 cm

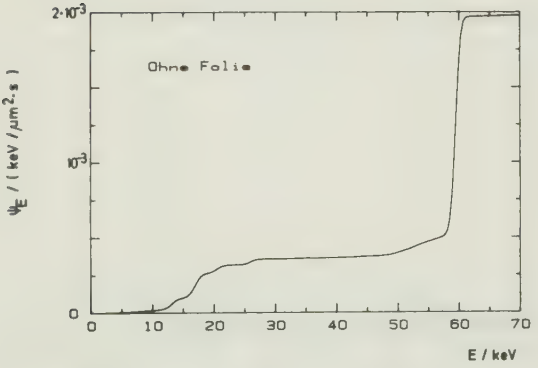


Abb. 7: Summenspektrum der spektralen Energieflußdichte Ψ_E der ^{241}Am-Quelle (Energieflußdichte von Quanten mit einer Energie unterhalb E bei einem Quelle - Detektor - Abstand von 6 cm

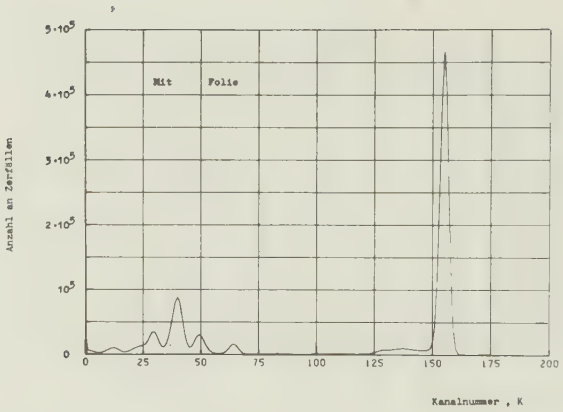


Abb. 8: Impulshöhenspektrum für die ^{241}Am-Quelle nach Zwischenschalten einer Folie (Emulsion K 2): Anzahl der Zerfälle pro Kanal im Impulshöhenanalysator. Der Kanal , K , entspricht der Energie E = K * 0,369 keV. Meßdauer 1000 s

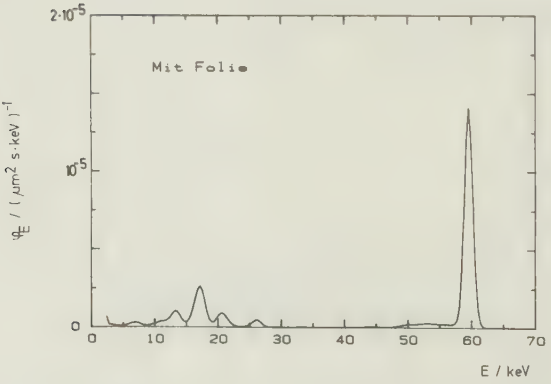


Abb. 9: Energiespektrum der Teilchenflußdichte φ_E der aus der ^{241}Am-Quelle emittierten Quanten bei einem Quelle - Detektor - Abstand von 6 cm

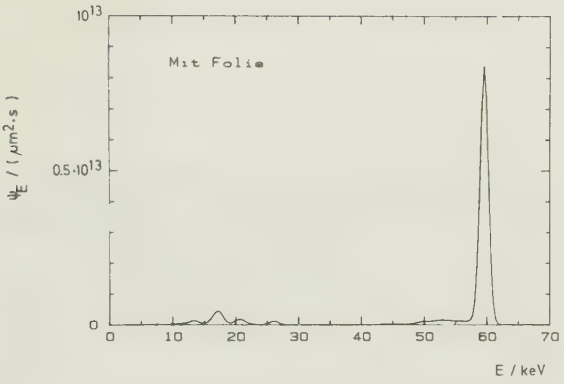


Abb. 10: Energiespektrum der Energieflußdichte Ψ_E der aus der ^{241}Am-Quelle emittierten Quanten bei einem Quelle - Detektor - Abstand von 6 cm

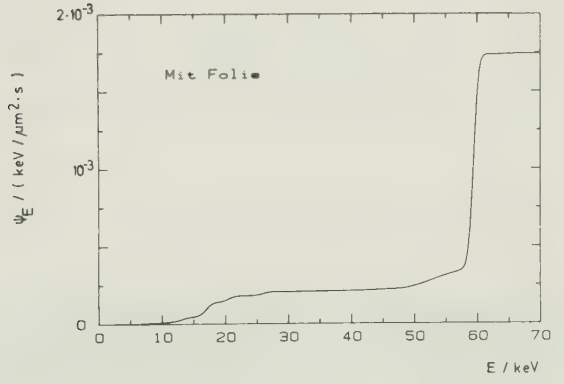


Abb. 11: Summenspektrum der spektralen Energieflußdichte Ψ_E der ^{241}Am-Quelle (Energieflußdichte von Quanten mit einer Energie unterhalb E bei einem Quelle-Detektor - Abstand von 6 cm

1	2	3	4	5
ABSTAND	EXPOSITIONS ZEIT	KORNDICHTE IN DER EMULSION (NULLEFFEKT)	ENERGIE DICHTE	ENERGIE AUFWAND
r / cm	t / s	$v / 10^{-3} / \mu m^3$	$\varepsilon / 10^{-3} / \mu m^3$	ω /keV
0,9	600	$31,8 \pm 0,6 (1,5 \pm 0,2)$	268,5	$8,4 \pm 0,2$
0,9	300	$15,4 \pm 0,5 (1,7 \pm 0,2)$	134,3	$8,4 \pm 0,3$
0,9	120	$9,7 \pm 0,4 (1,3 \pm 0,2)$	53,7	$5,5 \pm 0,2$
1,9	600	$11,0 \pm 0,5 (1,5 \pm 0,2)$	62,3	$5,7 \pm 0,3$
1,9	300	$6,2 \pm 0,4 (1,5 \pm 0,2)$	31,2	$5,0 \pm 0,3$
1,9	120	$3,6 \pm 0,3 (1,6 \pm 0,2)$	12,5	$3,5 \pm 0,3$
2,9	600	$5,3 \pm 0,4 (1,8 \pm 0,2)$	27,0	$5,1 \pm 0,4$
2,9	300	$3,9 \pm 0,3 (1,5 \pm 0,2)$	13,5	$3,5 \pm 0,3$
2,9	120	$2,1 \pm 0,3 (1,7 \pm 0,2)$	5,4	$2,6 \pm 0,4$
3,9	600	$3,5 \pm 0,3 (1,3 \pm 0,2)$	15,0	$4,3 \pm 0,4$
3,9	300	$2,2 \pm 0,3 (1,5 \pm 0,2)$	7,5	$3,4 \pm 0,5$
3,9	120	$0,9 \pm 0,3 (1,5 \pm 0,2)$	3,0	$3,3 \pm 1,1$
4,9	600	$2,2 \pm 0,3 (1,6 \pm 0,2)$	9,6	$4,4 \pm 0,6$
4,9	300	$1,4 \pm 0,3 (1,4 \pm 0,2)$	4,8	$3,4 \pm 0,7$
4,9	120	- -	-	-
5,9	600	$1,6 \pm 0,3 (1,5 \pm 0,2)$	6,6	$4,1 \pm 0,8$
5,9	300	$0,8 \pm 0,3 (1,2 \pm 0,2)$	3,3	$4,1 \pm 1,5$
6,9	600	$0,9 \pm 0,3 (1,4 \pm 0,2)$	4,8	$5,3 \pm 1,8$
6,9	300	$0,9 \pm 0,2 (1,5 \pm 0,2)$	2,4	$2,7 \pm 0,6$

Tab. 5: Korndichte und Energiedichte, bezogen auf die entwickelte Emulsion K 2, bei unterschiedlichem Abstand der ^{241}Am-Quelle von der Emulsion und verschiedenen Expositionszeiten. Spalte 5 zeigt den errechneten Energieaufwand pro Silberkorn

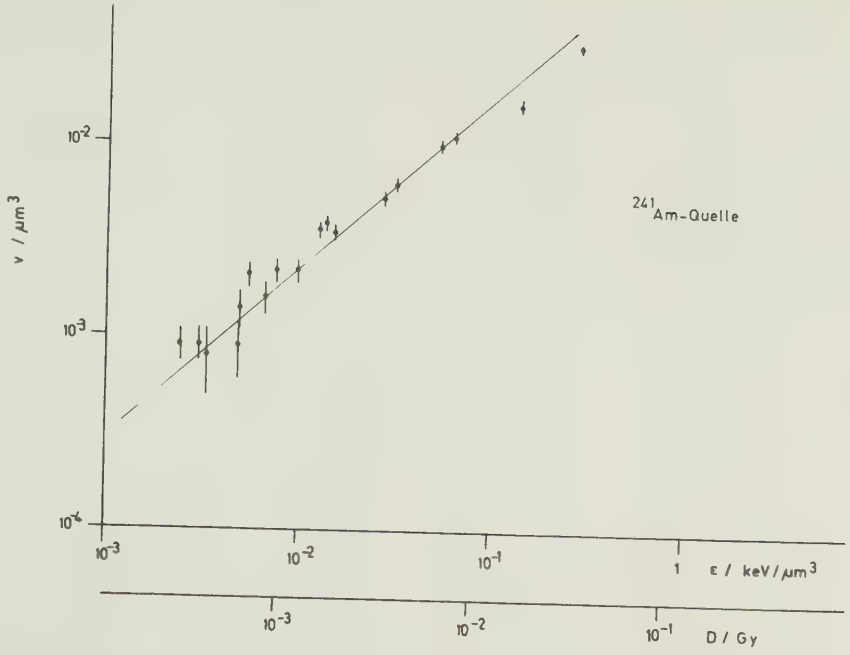


Abb. 12: Beobachtete Korndichte , v , als Funktion der Energiedichte, ε , und der Energiedosis, D , in der Emulsion ILFORD K 2. Wie im Text erläutert sind nicht nur v sondern auch ε und D auf die entwickelte Emulsion bezogen.

IV. DISKUSSION

1. Untersuchung zum Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns

In der vorliegenden Arbeit wird mit zwei Methoden der Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns in den photographischen Emulsionen ILFORD K 2 und K 5 bestimmt. Zum einen wird der ß-Strahler Tritium (^{3}H-TdR), zum anderen ^{241}Ameritium (^{241}Am), das als reiner γ-Strahler vorliegt, verwendet.

Wie schon in den voranstehenden Kapiteln beschrieben, wird ^{3}H-TdR der flüssigen Emulsion zugesetzt. Die vorliegende Energiedichte kann anhand der eingesetzten ^{3}H-Aktivität berechnet werden. Dabei wird eine gleichmäßige Verteilung des ^{3}H-TdR in der flüssigen Emulsion vorausgesetzt.

Mit der ^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung wird die getrocknete Emulsion bestrahlt. Die Dosisleistung in der Emulsion ist nicht bekannt. Zunächst wird daher die Energiedichte bei fixiertem Abstand der Quelle von der Emulsion und Bestrahlungszeit experimentell bestimmt. Anhand des erhaltenen Zahlenwertes kann mit Hilfe des Abstands-Quadrat-Gesetzes die Energiedichte für beliebige Abstände von der Emulsion und Bestrahlungszeiten berechnet werden.

Die exponierten Emulsionspräparate werden einer Amidolentwicklung unterzogen. Die optimale Entwicklungszeit für "Dicke-Schicht"-Emulsionen wird experimentell bestimmt. Abbildung 2 zeigt die Korndichte als Funktion der Entwicklungszeit bei konstanter Temperatur und Konzentration des Entwicklers. Die erhaltene Kurve zeigt zwischen 18 bis 35 Minuten ein Plateau, das heißt in diesem Bereich ist die Silberkorndichte weitgehend unabhängig von der Entwicklungszeit. Da jedoch der Nulleffekt mit der Entwicklungszeit linear ansteigt, ist es günstig, einen Wert vom Anfang

des Plateaus zu wählen. Die von SCHULTZE (1969) angegebene Entwicklungszeit für dicke Schicht bei ILFORD Emulsion von 20 Minuten liegt am Beginn dieses Plateau und ist gut gewählt. Dieser Wert wird für diese Arbeit übernommen.

Die Ergebnisse der Versuche mit ^{3}H sind in der Tabelle 4 (III. Seite 35/36) aufgeführt. Abbildung 3 zeigt die Korndichte als Funktion der Energiedichte bzw. der Energiedosis. Die erhaltene Gerade verläuft in der logarithmischen Darstellung annähernd unter 45 ^{o}, was einem linearen Zusammenhang zwischen Korndichte und Energiedichte entspricht. Der Energieaufwand zur Erzeugung eines Silberkorns ist demnach von der vorliegenden Energiedichte unabhängig.

Dies geht auch aus Abbildung 12 hervor, welche die Ergebnisse der Versuche mit ^{241}Am zeigt. Auffällig ist der mangelnde Anstieg der Korndichte bei hoher Energiedichte bei den Versuchen mit ^{241}Am. Dies läßt sich jedoch auf einen systematischen Fehler zurückführen. Bei diesen Versuchen wird eine wesentlich höhere Energiedichte in der Emulsion erreicht als bei den Versuchen mit ^{3}H. Da bei hoher Korndichte die einzelnen Silberkörner teilweise sehr eng beieinanderliegen, können sie visuell nicht mehr getrennt registriert werden. Dadurch wird eine zu kleine Korndichte ausgewertet und nach Vergleich mit der entsprechenden Energiedichte ein zu hoher Energieaufwand erhalten.

Aus den Abbildungen 2 und 11 läßt sich ferner ersehen, daß auch noch bei sehr geringen Energiedosen eine auswertbare Korndichte erreicht wird. Auf die Autoradiographie bezogen bedeutet dies, daß auch bei Vorliegen kleinster Energiedosen markierte Zellen erkannt werden können.

Aus den Ergebnissen der Versuche mit ^{3}H ergibt sich ein mittlerer Energieaufwand von 5,4 keV für die Emulsion ILFORD K 2 bzw. 2,9 keV für ILFORD K 5. Bei ^{241}Am kann ein mittlerer Energieaufwand von 4,5 keV für ILFORD K 2 angegeben werden.

Ein Vergleich der Ergebnisse für ILFORD K 2 zeigt, daß die Zahlenwerte nur gering voneinander abweichen. Daraus kann geschlossen werden, daß die zur Erzeugung eines Silberkorns notwendige Energie, zumindest bei den hier verwendeten Quellen, vom zugrunde liegenden Elektronenspektrum weitgehend unabhängig ist. Abbildung 13 zeigt für ^{3}H und ^{241}Am die Korndichte als Funktion der Energiedichte bzw. der Energiedosis für die Emulsion ILFORD K 2.

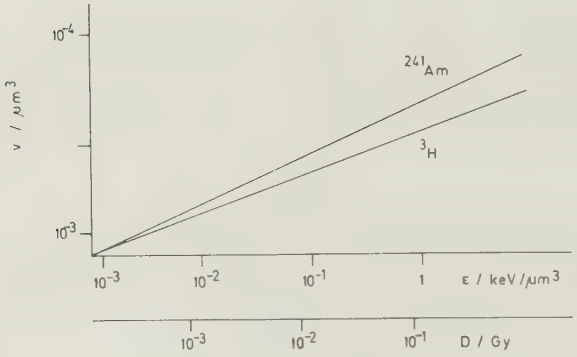


Abb. 13: Korndichte, v , als Funktion der Energiedichte, ε , und der Energiedosis, D , in der Emulsion K 2. Zugrunde gelegt ist der mittlere Energieaufwand pro Silberkorn von 5,4 keV (^{3}H) und 4,5 keV (^{241}Am)

2. Bisherige Untersuchungen zur Kornausbeute pro Zerfall bei ILFORD Emulsionen

2.1. Um die Kornausbeute pro Zerfall zu bestimmen, untersuchten CARO und SCHNÖS (1965) Autoradiogramme von Bakterienausstrichen. Die Bakterien vom Typ E. coli wurden mit einem ^{3}H-markierten Phagen Lambda infiziert. Zur Herstellung der Autoradiogramme diente die Emulsion ILFORD L 4 in dicker Schicht (die Dicke der Emulsionsschicht entspricht einem Vielfachen des mittleren Kristalldurchmessers).

Entwickelt wurde die Emulsion mit D-19 über 5 Minuten bei 20 ^{o} C. Die Anzahl der von den Phagen emittierten ß-Teilchen errechneten die Autoren über die Konzentration des ^{3}H-TdR in der DNA der Phagen. Sie erhielten eine Emission von 16 ß-Teilchen pro Tag pro Phage. Wird die Anzahl der lichtmikroskopisch gezählten Silberkörner der Gesamtzahl der emittierten ß-Teilchen gegenübergestellt, ergibt sich eine Kornausbeute von 0,41 Silberkörnern pro Zerfall. Unter der Annahme, daß nur 50 % der ß-Teilchen in Richtung Emulsion emittiert werden und die ß-Selbstabsorption (Absorption der ß-Teilchen durch das Gewebe) ca. 38 % beträgt, geben die Autoren eine Ausbeute von 1,32 Silberkörnern pro in die Emulsion eintretenden ß-Teilchen an. Das entspricht einem Energieaufwand von 4,31 keV pro Silberkorn. CARO und SCHNÖS folgerten daraus, daß praktisch jedes ß-Teilchen, das die Emulsion erreicht, e i n Silberkorn erzeugt.

Außerdem wurden noch Untersuchungen unter Verwendung einer Einkornschicht der Emulsion ILFORD L 4 durchgeführt. Unter der Einschränkung, daß Einkornschichten (Schichtdicke 0,14 /um) weder perfekt noch gut reproduzierbar sind, geben die Autoren eine maximale Kornausbeute von 0,2 Silberkörnern pro ß-Teilchen an.

2.2. ADA et al. (1965) untersuchten Autoradiogramme von Ausstrichen von Schafserythrozyten, die mit menschlichem, ^{3}H-markiertem Serumalbumin ge-

koppelt waren. Verwendet wurde die Photoemulsion ILFORD L 4 in dicker Schicht (ca. 8 /um). Entwickelt wurde die Emulsion mit KODAK D 19 B über 4 Minuten. Die ß-Aktivität über dem Zellausstrich wurde mit einem gas-flow-counter bestimmt. Sie betrug je nach Zellausstrich 50 bis 117 Zerfälle pro Zelle pro 24 Stunden. Die Silberkörner in der Emulsion wurden lichtmikroskopisch gezählt.

Für die in Richtung Emulsion emittierten ß-Teilchen geben die Autoren eine Ausbeute von 0,29 Silberkörner an. Das entspricht einem Energieaufwand von 19,6 keV zur Erzeugung eines Silberkorns.

2.3. RON und PRESCOTT (1970) untersuchten Autoradiogramme von Ausstrichen ^{3}H-markierter Zellkerne von Amoeba proteus. Sie verwendeten die Emulsionen ILFORD G 5, K 2, K 5, L 4. Diese wurden im DIPPING-Verfahren auf die Ausstriche aufgebracht und mit KODAK D-11 Entwickler über 3 Minuten entwickelt. Eine Angabe zur Schichtdicke wird nicht gemacht. Die Zerfallsrate über den Zellgruppen des Ausstrichs wurde mit einem "windowless gas flow counter" bestimmt. Um verschiedene Gruppen vergleichen zu können, wurde ein Standard von 100 Zerfällen pro Minute festgelegt. Die über den betreffenden Gruppen in der Emulsion liegenden Silberkörner wurden lichtmikroskopisch gezählt.

Für die einzelnen Emulsionen geben die Autoren folgende Ergebnisse an:

K 2	1 Silberkorn	/	100 Zerfälle
K 5	7 Silberkörner	/	100 Zerfälle
L 4	11 Silberkörner	/	100 Zerfälle
G 5	12 Silberkörner	/	100 Zerfälle

Bei der Berechnung der Kornausbeute pro ß-Zerfall wurde die Anzahl der in Richtung Emulsion emittierten ß-Teilchen zugrunde gelegt. Den Einfluß der ß-Selbstabsorption halten die Autoren für vernachläßigbar klein.

2.4. BACHMANN und SALPETER (1967) untersuchten Autoradiogramme von ^{3}H-Gelantineschichten. Dazu wurde ^{3}H-TdR (Thymidin) der aufgelösten Gelantine zugesetzt und dann Schichten mit einer interferometrisch bestimmten Dicke von 800 bis 1000 Å hergestellt. Über die Dicke der Schicht und die spezifische Aktivität von ^{3}H-TdR wurde eine Emission von 4 bis 15 ß-Teilchen pro /um^{2} berechnet. Die ^{3}H-Gelantineschicht wurde gegen eine ILFORD L 4-Einkornschicht gepresst und nach Exposition über 1 bis 8 Tage in Mikrodol-X über 3 Minuten entwickelt. Die Autoradiogramme wurden elektronenmikroskopisch ausgewertet.

Die Autoren erzielten eine Kornausbeute von 0,1 Silberkörner pro ß-Teilchen. Das entspricht einem Energieaufwand von 57 keV pro Silberkorn. Zugrunde gelegt ist die Gesamtzahl der aus der Gelantineschicht austretenden ß-Teilchen. Die ß-Selbstabsorption spiele auch keine Rolle, da sie bei einer Dicke des biologischen Materials von 1000 Å nur 5 % der Gesamtenergie betrage.

2.5. Im Rahmen ihrer Untersuchungen zur ß-Selbstabsorption bei der ^{3}H-Autoradiographie, bestimmten MAURER und PRIMBSCH (1964) auch die Kornausbeute pro ß-Zerfall. Sie untersuchten Autoradiogramme mit 3 /um dicken Metacrylatschnitten der Leber. Zur Herstellung der Autoradiogramme wurde die Emulsion KODAK AR 10 verwendet. Nach lichtmikroskopischer Auswertung der Autoradiogramme wurden die Schnitte vom Objektträger abgelöst, verbrannt und die ^{3}H-Aktivität in einem Scintillationszähler bestimmt. Der Vergleich der gemessenen Zerfallprozesse mit den ermittelten Silberkorndichten ergab, daß 16 ß-Teilchen zur Erzeugung eines Silberkorns notwendig sind. Da jedoch nur 50 % der ß-Teilchen in Richtung Emulsion emittiert werden und für die Trockenmasse des Gewebes ein ß-Selbstabsorptionskoeffizient von 0,3 zugrunde gelegt wurde, wird die zur Erzeugung eines Silberkorns notwendige Zahl an Zerfallprozessen mit 2,4 angegeben. Die Autoren erhielten also eine Ausbeute von 0,41 Silberkörner pro in die Emulsion eintretende ß-Teilchen. Das entspricht

einem Energieaufwand von 13,77 keV pro Silberkorn.

3. Vergleich mit den Ergebnissen bisheriger Untersuchungen

Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen (siehe Tabelle 6) zeigen erhebliche Schwankung hinsichtlich der Kornausbeute pro ß-Zerfall. Gemeinsam ist allen Untersuchungen, daß autoradiographische Präparate zur Bestimmung der Kornausbeute pro Zerfall verwendet werden. Dies ist von Bedeutung, da gerade in der vorliegenden Arbeit die typische autoradiographische Versuchsanordnung verlassen wird. Im Gegensatz zu den genannten Untersuchungen kann hier die in der Emulsion deponierte Energie direkt gemessen oder berechnet werden. Da somit unterschiedliche Geometrien zugrunde gelegt werden, ist ein Vergleich nur mit den Untersuchungen möglich, die zur Berechnung der Kornausbeute pro ß-Zerfall nur die tatsächlich in die Emulsion eintretenden ß-Teilchen heranziehen. ROGERS bezeichnet dies als Ausbeute (yield).

Bis auf BACHMANN und SALPETER, die für ihre Angabe - Kornausbeute pro ß-Zerfall - die Gesamtzahl der erhaltenen ß-Zerfälle zugrunde legen, versuchen die übrigen Autoren, durch Messung der ß-Aktivität über dem Gewebe vor Applikation der Emulsion oder unter Berücksichtigung der ß-Selbstabsorption im Gewebe, die Anzahl der in Richtung Emulsion emittierten ß-Teilchen zu bestimmen. Auffällig ist daher die erhebliche Schwankung der erzielten Ausbeute um den Faktor 10 bei Verwendung derselben Photoemulsion. So geben CARO und SCHNÖS für die dicke Schicht der Emulsion ILFORD L 4 eine Ausbeute von 1,32 Silberkörnern pro ß-Zerfall an, ADA et al. 0,29 Silberkörner und RON und PRESCOTT 0,1 Silberkörner pro ß-Zerfall.

Die Verwendung unterschiedlicher Gewebearten zur Herstellung der Autoradiogramme, das Vorliegen einer unterschiedlichen Geometrie oder eine

ISOTOP	EMULSION ILFORD TYP	SCHICHTDICKE der EMULSION	SILBERKORN pro β-ZERFALL	AUTOREN
^3H	L 4	Dicke	1,32	CARO SCHNÖS
^3H	L 4	Einkorn	0,2	CARO SCHNÖS
^3H	K 2	Dipping - Verfahren	0,01	RON
^3H	K 5	keine genauen An-	0,07	und
^3H	L 4	gaben zur Dicke der	0,10	
^3H	G 5	verwendeten Emuls.	0,12	PRESCOTT
^3H	L 4	Einkorn	0,10	BACHMANN SALPETER
^3H	L 4	Dicke	0,29	ADA et al.
^3H	KODAK AR 10	Stripping Film	0,41	MAURER PRIMBSCH

Tab. 6: Zusammenstellung der Ergebnisse der beschriebenen Untersuchungen

unterschiedliche Meßtechnik erklären diese Diskrepanz nicht hinreichend.

Der Grund dafür liegt eher in der unterschiedlichen Verarbeitungstechnik der Photoemulsion. In den einzelnen Untersuchungen kamen jeweils verschiedene Entwicklungsverfahren zur Anwendung.

Der Einfluß des Entwicklers und der Entwicklungszeit auf die Empfindlichkeit einer Photoemulsion wurde von KOPRIWA (1967) geprüft. Dabei wurden Autoradiogramme mit der Emulsion ILFORD L 4 hergestellt und mit unterschiedlichen Entwicklern bei konstanter Temperatur und Entwicklungszeit entwickelt. Die Auswertung ergab, daß die Zahl der Silberkörner, deren Größe sowie der Nulleffekt der Emulsion von Entwickler zu Entwickler um den Faktor 4 schwankte.

Da die genannten Autoren völlig unterschiedliche Entwickler und Entwicklungszeiten verwenden, wird deutlich, daß die Größe Kornzahl pro ß-Zerfall in erheblichem Maße von den Laborbedingungen des Untersuchers abhängt.

Die Schwierigkeit aus den zahlreichen vorliegenden Untersuchungen zum Energieaufwand pro Silberkorn vergleichbare Schlüsse zu ziehen, veranlaßte die vorliegende Untersuchung und begründet ihre Notwendigkeit. Um die Aussagekraft der Resultate zu gewährleisten, werden zwei von den bisherigen Verfahren abweichende Techniken benützt, nämlich die direkte Mischung der Aktivität in die Emulsion und die externe Bestrahlung durch eine separate Gammaquelle. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sollten daher generell für autoradiographische Arbeiten bedeutsam sein. Allerdings gelten die Zahlenwerte nur für die verwendeten Emulsionen und für die Bedingungen der Entwicklung, die beschrieben wurden.

Die Kalibrierung der photographischen Emulsion durch den externen Strahler mittels der beschriebenen Vorrichtung sollte von genereller Bedeutung zur Ausschaltung von Fehlerquellen in autoradiographischen Arbeiten

sein und scheint besonders bedeutsam für alle Untersuchungen, die sich quantitativer Autoradiographie bedienen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, mit zwei unterschiedlichen Methoden den Energieaufwand pro Silberkorn für die photographischen Emulsionen ILFORD K 2 und K 5 zu bestimmen. Verwendet werden die Isotope ^{3}H und ^{241}Am. Dabei wird ^{3}H-TdR in wässriger Lösung der geschmolzenen Emulsion zugesetzt und wirkt nach Trocknung der Emulsion als interne Strahlenquelle. Für die ^{241}Am-Quelle wird eine Bestrahlungsvorrichtung konstruiert. Die Emulsion wird dann einer externen Bestrahlung ausgesetzt.

2. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, daß die Korndichte in der Emulsion linear mit der Energiedichte ansteigt. Ein Vergleich der Ergebnisse der Untersuchungen von ^{3}H mit denen von ^{241}Am zeigt, daß der Energieaufwand pro Silberkorn weitgehend unabhängig von dem verwendeten Energiespektrum ist. Der Energieaufwand pro Silberkorn bei den Versuchen mit ^{3}H beträgt 5,4 keV (ILFORD K 2) bzw. 2,9 keV (ILFORD K 5), bei ^{241}Am 4,5 keV (ILFORD K 2).

3. Ein Vergleich mit Ergebnissen bisheriger Untersuchungen ist nicht möglich, da unterschiedliche Emulsionen verwendet werden. Ferner kommen zwei, von den bisherigen Verfahren abweichende Techniken zur Anwendung, so daß andere geometrische Verhältnisse vorliegen. Außerdem ist die Größe Kornzahl pro ß-Zerfall in erheblichem Maße von den Laborbedingungen abhängig, vor allem von dem angewandten Entwicklungsverfahren (KOPRIWA 1967).

4. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird für das verwendete Isotop ^{241}Am eine Bestrahlungsvorrichtung konstruiert. Mit dieser kann auf technisch einfache Weise die Empfindlichkeit und die Empfindlichkeitskonstanz photographischer Emulsionen geprüft werden. Für die Emulsion ILFORD K 2 wird eine Eichkurve angegeben.

VI. ANHANG

Testverfahren zur Prüfung der Empfindlichkeit einer photographischen Emulsion

Die konstruierte ^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung kann auch als technisch einfache Methode zur Überprüfung photographischer Emulsionen verwendet werden. Gerade bei quantitativen autoradiographischen Versuchen können Schwankungen der Empfindlichkeit der Photoemulsion von Bedeutung sein. Da in der vorliegenden Arbeit der Energieaufwand pro Silberkorn experimentell bestimmt wird, kann eine Eichkurve für die Emulsion ILFORD K 2 angegeben werden. Abbildung 14 zeigt die mittlere Korndichte v als Funktion des Abstands der Quelle von der Emulsion r für die Emulsion K 2. Aus Abbildung 14 kann also für dicke Schicht der Emulsion K 2 die zu erwartende Korndichte in der Emulsion bei bekanntem Abstand der Quelle und bei einer der angegebenen Bestrahlungszeiten entnommen werden.

Die in Schema III (Kapitel II, 4.2.1.) dargestellte ^{241}Am-Bestrahlungsvorrichtung soll noch einmal kurz erklärt werden:
am Ende einer vertikal verstellbaren Spindel ist die in eine Plexiglasscheibe eingelassene ^{241}Am-Quelle befestigt. Durch diese Spindel kann der Abstand zur Emulsion verändert werden. Um auch in der Dunkelkammer den Abstand verändern zu können, werden Abstandsscheiben (1 cm) am äußeren Teil der Spindel eingesetzt. Der Abstand kann so zwischen 0,9 bis 6,9 zentimeterweise eingestellt werden.
Die auf Objektträger aufgetragene Emulsion wird im Dunkeln (kein Rotlicht) auf den Einschub gelegt. Eine Bleiblende mit einem Fester von 0,6 · 1,5 cm begrenzt das auf die Emulsion treffende Strahlenbündel. Nach der Entwicklung wird dann visuell die Korndichte unter dem Mikroskop bestimmt.

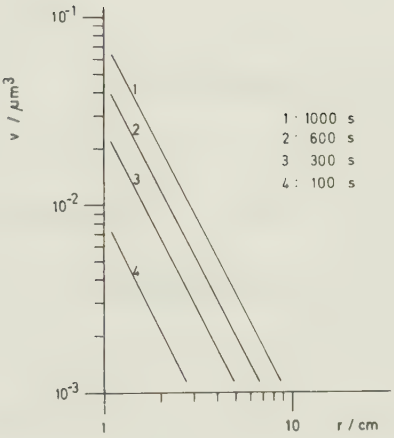


Abb. 14: Korndichte , v , als Funktion des Abstandes Quelle - Emulsion r

Zusammenstellung der verwendeten Symbole

N = Anzahl der Silberkörner

V = Volumen

ε = Energiedichte

$\bar{\varepsilon}$ = mittlere Energiedichte (Energie pro Volumeneinheit)

v = Korndichte (Silberkörner pro Volumeneinheit)

$\bar{v}$ = mittlere Korndichte

D = Energiedosis

Ψ = Energieflußdichte

Ψ_E = spektrale Energieflußdichte

φ = Teilchenflußdichte

φ_E = spektrale Teilchenflußdichte

ϱ_{fl} = Dichte der geschmolzenen Emulsion

ϱ_t = Dichte der getrockneten Emulsion

ϱ_e = Dichte der entwickelten Emulsion

F = Volumenreduktionsfaktor

f_1 = Volumenreduktionsfaktor von geschmolzener zu getrockneter Emulsion

f_2 = Volumenreduktionsfaktor von getrockneter zu entwickelter Emulsion

t = Expositionszeit

r = Abstand der Strahlungsquelle von der Emulsion

α = spezifische Aktivität

π = Anzahl an Zerfällen

ω = Energieaufwand pro Silberkorn

$\bar{\omega}$ = mittlerer Energieaufwand pro Silberkorn

v_K = Korndichte (Silberkörner pro Volumeneinheit)

v_N = Korndichte (Nulleffekt abgezogen)

LITERATURVERZEICHNIS

1. ADA, G.L., HUMPHREY, J.H., ASKONAS, B.A., MC DEVITT, H.O., NOSSAL, G.J.V.:
Correlation of grain counts with radioactivity (^{125}J and Tritium) in autoradiography.
Exp. Cell Res. 41 (1965) 557-572.

2. AMLACHER, E.:
Autoradiographie in Histologie und Zytologie.
Georg Thieme, Leipzig 1974.

3. BACHMANN, L. and M.M. SALPETER:
Absolute sensitivity of electron microscope radioautography.
J. Cell Biology 33 (1967) 299-305.

4. BARKAS, W.H.:
Nuclear Research Emulsions
Academic Press, New York 1963, Volumen I und II.

5. CLEAVER, J.E.:
Thymidine metabolism and cell kinetics.
North Holland Publ., Amsterdam 1967.

6. CARO, L.G. and M. SCHNÖS:
Tritium and Phosphorus-32 in High-Resolution autoradiography.
Science 149 (1965) 60-62.

7. JAEGER, R.G. und W. HÜBNER:
Dosimetrie und Strahlenschutz.
Thieme Verlag Stuttgart 1974, 55-59.

8. KOPRIWA, B.M.:
The influence of development of the number and appearance of silver grains in electron microscopic radioautography.
J. Histochem. Cytochem. 15, 9 (1967) 501-515.

9. MAURER, W. und E. PRIMBSCH:
Größe der ß-Selbstabsorption bei der ^{3}H-Autoradiographie.
Exp. Cell. Res. 33 (1964) 8-18.

10. RON, A. and D.M. PRESCOTT:
The efficiency of Titium counting with seven radioautographic emulsions.
In Methods in Cell Physiology, Vol. IV, D.M. PRESCOTT, ed., Academic Press, New York 1970, 231-239.

11. ROGERS, A.W.:
Techniques of Autoradiography.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New York 1979.

12. SCHULTZE, B., W. MAURER and H. HAGENBUSCH:
A two emulsion autoradiographic technique and the discrimination of three different types of labelling after double labelling with ^{3}H- and ^{14}C-thymidine.
Cell Tissue Kinet. 9 (1976) 245-255.

13. SCHULTZE, B.:
Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.
In: "Handbuch der allgemeinen Pathologie" Band 2/5 (1968) 466 ff.
Springer-Verlag Berlin-New York 1968.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. A. M. Kellerer für die Überlassung des Themas, die Arbeitsmöglichkeit an seinem Institut und vor allem für seine Hilfe und Diskussionsbereitschaft bei den Überlegungen im Rahmen dieser Arbeit danken.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. B. Maurer-Schultze für ihren ständigen Rat bei der Planung und Ausführung der Versuche.

Im besonderen gilt mein Dank Herrn H. Roos für seine Unterstützung und seinen Rat bei den theoretischen Problemen, die sich bei der Herstellung der vorliegenden Arbeit ergeben hatten.

Danken möchte ich auch Herrn Krug für seine Hilfe bei der Herstellung der vielen Autoradiogramme.

LEBENSLAUF

Ich, Hans Georg Krezdorn, wurde am 26.12.1954 als Sohn des Dr.med. Berthold Krezdorn und Marianne Krezdorn, geborene Beck in Stuttgart geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Stuttgart und anschließend das Karls-Gymnasium Stuttgart. Dort legte ich im Juni 1973 die Reifeprüfung ab.

Im Oktober 1973 wurde ich als Wehrpflichtiger zum Sanitätsbataillon Veitshöchheim eingezogen. Im Mai 1974 wurde ich zur Aufnahme meines Medizinstudiums aus der Bundeswehr entlassen.

Ich begann mit dem Medizinstudium in Freiburg und wechselte dann an die Universität Würzburg und bestand dort, nach Beendigung des Praktischen Jahres, im Mai 1980 den 3. Teil der Ärztlichen Prüfung.

Seit 1. September 1980 bin ich an der Medizinischen Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg als Assistenzarzt tätig.

Hans Georg Krezdorn